

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 738 283**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/28** (2006.01)

**A61P 37/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.02.2014 PCT/EP2014/053243**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.08.2014 WO14128168**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.02.2014 E 14705767 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2019 EP 2864359**

54 Título: **Anticuerpos anti-CD26 y usos de los mismos**

30 Prioridad:

**19.02.2013 EP 13425029**

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

**21.01.2020**

73 Titular/es:

**ADIENNE S.A. (100.0%)**

**Vía Zurigo, 46  
6900 Lugano, CH**

72 Inventor/es:

**DI NARO, ANTONIO FRANCESCO**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**Observaciones:**

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

**ES 2 738 283 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Anticuerpos anti-CD26 y usos de los mismos

**Campo de la invención**

5 La presente invención pertenece a anticuerpos innovadores capaces de unirse a CD26, al igual que a su uso como medicamento. Además, la presente invención se refiere a anticuerpos para su uso en el tratamiento y/o prevención de al menos una de entre la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) y la anemia aplásica, al igual que a anticuerpos para su uso en la promoción del prendimiento del injerto después de trasplante de células madres hematopoyéticas.

**Antecedentes de la invención**

10 La CD26 es una glucoproteína de la superficie celular de 110 kDa extensamente distribuida, inicialmente definida como antígeno de la activación de las células T (Fox *et al.* (1984) *J. Immunol.* 133, 1250-1256, Fleischer (1987) *J. Immunol.* 138, 1346-1350, y Morimoto *et al.* (1989) *J. Immunol.* 143, 3430-3439). Esta molécula ha mostrado tener actividad de dipeptidil peptidasa IV (DPPIV; EC3.4.14.5) en su dominio extracelular y una distribución extensa en los tejidos (Hegen *et al.* (1990) *J. Immunol.* 144, 2908-2914 y Ulmer *et al.* (1990) *J. Immunol.* 31, 429-435; WO 2007/014169 A2). La CD26 tiene múltiples funciones en la fisiología de la célula T humana. Por ejemplo, las pruebas sugieren que la CD26 puede entregar una señal coestimuladora para activación de células T (Morimoto *et al.* (1994) *Immunologist* 2: 4-7 y Fleischer (1994) *Immunol. Today* 15:180-184). Además, se ha identificado la CD26 como la proteína de unión a ADA, y el complejo CD26/ADA puede desempeñar un papel clave en la regulación de la función del sistema inmunológico (Dong *et al.* (1996) *J Immunol.* 156(4):1349-55, Kameoka *et al.* (1993) *Science.* 261(5120):466-9, y Morrison *et al.* (1993) *J Exp Med.* 177(4):1135-43). También se ha documentado una asociación funcional entre CD26 y la proteína celular topoisomerasa II  $\alpha$  (Aytac *et al.* (2003) *British Journal of Cancer* 88:455-462). Los anticuerpos anti-CD26 se conocen de la publicación internacional WO 2007/014169 A2.

25 El trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH) representa una terapia importante para muchas neoplasias malignas hematológicas y numerosas epiteliales, al igual que para un número considerable de enfermedades no malignas (Ferrara *et al.*, 2009, *Lancet.*; 373: 1550-1561; Sun *et al.*, 2007, *Transl. Res.*; 150: 197-214). La enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) es una complicación importante del trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (TCMH) y, por lo tanto, limita el uso de estas importantes terapias.

30 Existen dos tipos importantes de trasplante de células hematopoyéticas: autólogo y alogénico. El trasplante autólogo implica el aislamiento de células madre hematopoyéticas (CMH) de un paciente, almacenamiento de las células madre, tratamiento médico del paciente que destruye las células madre que quedan en el cuerpo y retorno de las propias células madre almacenadas del paciente a su cuerpo. Los trasplantes autólogos tienen la ventaja de un riesgo menor de rechazo del injerto, de infección y de otras enfermedades correlacionadas. El trasplante alogénico implica dos personas: una es el donante sano y la otra es el paciente o receptor. Los donantes de CMH deben tener un tipo de tejido (antígenos de leucocitos humanos HLA) que sea compatible con el receptor y, además, el receptor requiere medicaciones inmunosupresoras. Existen tres fuentes posibles de células madre hematopoyéticas para el trasplante: médula ósea (MO), sangre periférica (SP) y sangre de cordón umbilical (SCU).

40 El desarrollo de estrategias innovadoras ha ayudado a expandir las indicaciones para TCMH alogénico en los últimos años (Sun *et al.*, 2007, *supra*). Las mejoras en la profilaxis infecciosa, medicaciones inmunosupresoras, tratamiento complementario y tipología de tejidos basada en el ADN han contribuido también a mejorar los resultados después de TCMH alogénico (Ferrara *et al.*, 2009, *supra*). Por estas razones, el número de trasplantes alogénicos de células madre hematopoyéticas continúa en aumento. Sin embargo, la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) sigue siendo una complicación importante del TCMH alogénico.

45 La EICH se produce cuando las células T del donante identifican genéticamente proteínas definidas en las células huésped como no propias y organizan una respuesta inmunitaria para destruirlas (Ferrara *et al.*, 2009, *supra*). Dependiendo del momento en el que esto se produce después del TCMH, la EICH puede ser tanto aguda como crónica. La EICH aguda (EICHa) es responsable de entre un 15 % a un 40 % de mortalidad y es la causa más importante de mortalidad después de TCH alogénico, mientras que la EICH crónica (EICHc) se produce hasta en un 50 % de los pacientes que sobreviven tres meses después del TCH (Sun *et al.*, 2007, *Transl. Res.*; 150: 197-214).

50 En términos generales, la enfermedad del injerto contra el huésped aguda se produce después de TCMH alogénico como reacción de las células inmunitarias del donante contra los tejidos del huésped. Los tres tejidos principales afectados por EICH aguda son la piel, el hígado y el tracto gastrointestinal. Clínicamente, el diagnóstico se sospecha cuando un receptor de TCMH desarrolla cualquiera o todos de los siguientes signos o síntomas: dermatitis (erupción cutánea), ampollas cutáneas, dolor abdominal tipo cólico, con o sin diarrea, náuseas persistentes y vómitos, hepatitis (con subida de la bilirrubina y/o enzimas hepáticas). Los síntomas empiezan más frecuentemente con el prendimiento del injerto del donante, antes del día 100 después del TCMH, pero también se pueden producir después. La EICH aguda es un diagnóstico clínico confirmado por pruebas histológicas.

La EICH aguda se puede estadificar según el número y el alcance de la implicación de los órganos. El actual sistema de estadificación deriva de la primera clasificación de EICHa de Glucksberg en 1974 (Glucksberg *et al.*, 1974, *Transplantation*; 18:4 295-304). Los datos recientes apoyan el uso del sistema de estadificación, ya que puede subdividir pacientes en categorías de riesgo por complicaciones y mortalidad. En este sistema, los pacientes se dividen en uno de cuatro grados (I-IV) dependiendo del grado o etapa de implicación en tres órganos. La piel se estadifica con el porcentaje de superficie corporal implicada, el hígado se estadifica con el grado de subida de la bilirrubina y el tracto gastrointestinal se estadifica con la cantidad de diarrea. Utilizando estos criterios, se asigna un único grado a cada paciente (Jacobsohn *et al.*, 2007, *Orphanet J. of Rare Diseases*; 2:35).

Se conocen distintas manifestaciones clínicas de EICH. La manifestación más temprana y más común es la EICH cutánea. Fundamentalmente, es un exantema maculopapuloso que puede empezar en cualquier parte del cuerpo, pero que comienza con frecuencia con implicación de la palma y de la planta del pie. El paciente se puede quejar de prurito o dolor a la palpación en las áreas afectadas. En casos graves, se pueden producir ampollas. Las manifestaciones gastrointestinales incluyen diarrea, que se puede volver hemorrágica, con calambres, náuseas, vómitos y caquexia. Además, la ictericia de hiperbilirrubinemia es el rasgo característico de la EICH hepática (Jacobsohn *et al.*, 2007, *supra*), aunque se ha reconocido una variante hepática de EICH con un aumento en las enzimas hepáticas similar a una hepatitis vírica aguda (Akpek *et al.*, 2002, *Blood*; 100: 3903-3907). Incluso aunque no se haya registrado la metilprednisolona en ningún país europeo para esta indicación, se considera un estándar actual de atención en el tratamiento de primera línea de EICH aguda.

El tratamiento de primera línea de EICH aguda con metilprednisolona 2 mg/kg/día es eficaz en más de un 50 % de los pacientes, pero produce respuestas duraderas solo en 1/3 de los pacientes. A los pacientes que no responden al tratamiento se les ofrece una terapia de segunda línea, que se basa en combinaciones de agentes inmunosupresores no registrados en esta indicación. La terapia de segunda línea es sumamente insatisfactoria con una supervivencia de un año de un 30 % en los ensayos clínicos más grandes. Ninguna de estas estrategias ha logrado el nivel de éxito requerido para convertirse en un estándar de atención. Después de 30 años de experiencia con trasplantes, la EICH aguda (EICHa) resistente a los esteroides continúa siendo, en gran medida, una enfermedad no tratable. Se debe hacer hincapié en que los pacientes con EICHa resistente a la terapia con esteroides tienen unas opciones terapéuticas muy limitadas y que no existen, en la actualidad, tratamientos autorizados para esta situación clínica. Esta afección pone en peligro la vida del paciente, en particular, debido a la mortalidad aumentada en esta población de pacientes, particularmente secundaria a la infección. Hatano *et al.* describen el tratamiento de EICH por medio de bloqueo de CD26 utilizando un anticuerpo monoclonal humanizado (*Blood* 2009, vol 114, Abstract 3548).

Cualquier resultado clínicamente relevante en esta población de pacientes sería un beneficio significativo, ya que ofrecería una ventaja clínicamente relevante para pacientes con EICHa resistente a los esteroides.

Asimismo, los planteamientos para facilitar el prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas serán útiles. El prendimiento del injerto es el proceso en el que las células madre trasplantadas encuentran su camino hacia los espacios de la médula ósea en el centro de los huesos grandes del cuerpo. Solo entonces, las células madre trasplantadas pueden empezar a producir nuevos glóbulos sanguíneos. Los expertos no están completamente seguros de cómo tiene lugar este proceso, pero se reconoce generalmente que es un proceso largo: tarda aproximadamente entre dos a cuatro semanas después de que se infunde la médula ósea para que se produzca el prendimiento del injerto. Hasta que las células madre sanguíneas prendan, el paciente se encontrará en riesgo de desarrollar una infección. Esto se debe a que el paciente trasplantado se ha sometido normalmente a radiación y/o quimioterapia, cuyo resultado es la destrucción de los glóbulos blancos en el cuerpo del paciente. Mientras se espera a que el injerto prenda, un paciente trasplantado podría sufrir una complicación grave debido a una infección (provocada por bacterias, virus u hongos), que es una de las principales causas de mortalidad relacionada con el trasplante después de un trasplante de médula ósea (TMO). Por consiguiente, existe una necesidad en la técnica de un agente capaz de mejorar el prendimiento de injertos. Un agente de este tipo será de un valor significativo para pacientes trasplantados de MO. Si se pueden potenciar la migración dirigida de linfocitos y el prendimiento del injerto, el tiempo de recuperación de linajes hematopoyéticos se podría reducir, lo que daría lugar a menos fracasos en el prendimiento del injerto y mejor supervivencia global, especialmente en trasplante de SCU (Broxmeyer, H. E. (2006). *Umbilical Cord Blood Stem Cells: Collection, Processing, and Transplantation*. *Blood Banking and Transfusion Medicine: Basic Principles and Practice*. C. D. Hillyer *et al.*, Churchill Livingstone, un sello editorial de Elsevier, Inc.: 823-832; Lewis, 2002, *Intern Med J* 32(12): 601-9).

La anemia aplásica es un tipo de anemia, en donde la médula ósea no consigue producir suficientes cantidades de glóbulos sanguíneos para reponer los glóbulos sanguíneos. En particular, podría existir una forma congénita y una adquirida de anemia aplásica. La anemia aplásica (AA) adquirida es un estado de insuficiencia medular raro caracterizado por hipocelularidad de la médula ósea y bajos hemogramas de sangre periférica [Young NS, Maciejewski JP. The pathophysiology of acquired aplastic anemia. *N Eng J Med* 1997, 336:1365-1372]. Las pruebas de una patogénesis autoinmune son, en su mayoría, indirectas y la caracterización de la respuesta inmunitaria subyacente es principalmente incompleta debido a dificultades técnicas resultantes de la hipocelularidad específica de la enfermedad. Se cree que la anemia aplásica adquirida es una enfermedad inmunomediada, y la terapia sin trasplantes estándar actual es globulina antitímocito (GAT) más ciclosporina A (CsA). Los fracasos incluyen pacientes que no responden a primera línea (30 %) y pacientes que recaen después de una primera respuesta

(30 %), de modo que la supervivencia sin sucesos no supera un 30-40 % (Bacigalupo A., Passweg J., 2009, Hematol Oncol Clin North Am. 23: 159-70).

La anemia aplásica sin tratar puede llevar a la muerte, en algunos casos, incluso, en un corto periodo de solo varios meses. Los tratamientos actuales de anemia aplásica abarcan, por ejemplo, trasplante de médula ósea o farmacoterapias inmunosupresoras. Sin embargo, las farmacoterapias inmunosupresoras fracasan en un número significativo de casos y el trasplante de médula ósea no es posible en ausencia de un donante apropiado. Por lo tanto, existe también una necesidad en la técnica de proporcionar agente(s) alternativo(s) para tratar la anemia aplásica, que preferiblemente pueda(n) ser eficaz (eficaces) para tratar a pacientes que no responden a al menos una de otras terapias.

## 10 Breve descripción de la invención

La presente invención se refiere a proporcionar un agente que se pueda utilizar para tratar y/o prevenir enfermedad(es), trastorno(s) y afección (afecciones), en particular, enfermedad(es), trastorno(s) y afección (afecciones) relacionadas con el sistema inmunitario. En particular, los autores de la presente invención se dirigen a la provisión de un agente que se pueda utilizar para tratar y/o prevenir al menos una de entre la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) y anemia aplásica o que se pueda utilizar para promover el prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas. Preferiblemente, este agente se debería, además, tolerar bien por parte de los pacientes. En particular, los autores de la presente invención se dirigen a la provisión de un agente que prevenga y/o trate al menos una de EICH y anemia aplásica o que promueva el prendimiento del injerto, en pacientes, en particular, en uno o más grupos de pacientes, que no responden a otros tratamientos, en particular, a otro tratamiento con un agente inmunosupresor, por ejemplo, un tratamiento con un esteroide, o que muestren una respuesta insuficiente al mismo.

Como solución a estos problemas, los autores de la presente invención proporcionan, entre otros, un anticuerpo, una composición farmacéutica, una molécula de ácido nucleico aislado, un vector, una composición que comprende una mezcla de anticuerpos, una célula huésped recombinante, un kit de componentes y un proceso para fabricar un anticuerpo.

Según un primer aspecto, se proporciona un anticuerpo según la reivindicación 1, es decir, un anticuerpo monoclonal aislado que se une específicamente a CD26 humana, dicho anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en donde dicha región variable de cadena pesada comprende una CDR1 de VH que comprende la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 133, una CDR2 de VH que comprende la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 134, y una CDR3 de VH que comprende la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 1, y en donde dicha región variable de cadena ligera comprende una CDR1 de VL de la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 129, una CDR2 de VL que comprende la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 130, y una CDR3 de VL que comprende la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 2, en donde dicha región variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 4 y 6 a 21, y en donde dicha región variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 22 a 47.

En la presente memoria, se describe además una molécula de ácido nucleico aislado que comprende (a) una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo de la presente invención; o (b) una secuencia de nucleótidos complementaria a (a). Según aún otro aspecto, se proporciona una molécula de ácido nucleico aislado, que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 50 a 128 y una variante de los mismos, dicha variante tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 50 a 128. Según todavía otro aspecto, la presente descripción proporciona un vector de expresión que comprende una molécula de ácido nucleico de la presente descripción, en donde dicha molécula de ácido nucleico se une de manera operativa a una secuencia de control de expresión. Según aún otro aspecto, se proporciona una célula huésped recombinante, que comprende una molécula de ácido nucleico de la presente descripción.

Según todavía otro aspecto, se proporciona un anticuerpo, que se produce a partir de la línea celular de hibridoma depositada el 11 de septiembre de 2012 bajo el Tratado de Budapest en el Centro de Biotecnología Avanzada (CBA) - colección de líneas celulares Interlab (ICLC) de Génova (L.go R. Benzi, 10, Génova, Italia) como PD 12002 o un derivado de dicha línea celular de hibridoma. El material de la línea celular de hibridoma depositado se refiere también en la presente memoria, de manera abreviada, como depósito de hibridoma PD 12002. Todas las restricciones en cuanto a la disponibilidad de estos depósitos se retirarán a partir de la primera publicación de esta solicitud u otra solicitud que reivindique beneficios de prioridad a esta solicitud. Según aún otro aspecto, los autores de la presente invención proporcionan un anticuerpo que se une al epítipo unido por medio de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002.

Según todavía otro aspecto, se proporciona un proceso para fabricar un anticuerpo de la presente invención.

Según aún otro aspecto, los autores de la presente invención proporcionan una composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo de la presente invención y, opcionalmente, al menos un excipiente

- farmacéuticamente aceptable. Según todavía otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica de la presente invención para su uso como medicamento. Según aún otro aspecto, los autores de la presente invención proporcionan una composición farmacéutica de la presente invención para su uso en la promoción del prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas, y/o para su uso en la prevención y/o tratamiento de la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), en particular, después de trasplante de células madre hematopoyéticas, y/o para su uso en la prevención y/o tratamiento de anemia aplásica.
- Según todavía otro aspecto, se proporciona un anticuerpo como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para su uso como medicamento, y para su uso en la promoción del prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas, y/o para uso en la prevención y/o tratamiento de la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), preferiblemente, después de trasplante de células madre hematopoyéticas, y/o para su uso en la prevención y/o tratamiento de anemia aplásica, preferiblemente, anemia aplásica grave. Según todavía otro aspecto, se proporciona un kit de componentes, que comprende: (I) al menos un anticuerpo de la presente invención y, adicionalmente, (II) a) al menos un fármaco inmunosupresor o b) al menos un corticosteroide y/o al menos un antihistamínico.
- 15 Descripción de las figuras**
- La Figura 1a muestra una secuencia humana de CD26 completa.
- La Figura 1b muestra una secuencia porcina de CD26 completa.
- La Figura 1c muestra una secuencia porcina y una humana de CD26 completas alineadas.
- La Figura 2a muestra secuencias de CDR3 de anticuerpos específicos de CD26.
- La Figura 2b muestra la lista de secuencias de la CDR1 de VH, CDR2 de VH, CDR3 de VH, CDR1 VL, CDR2 de VL y CDR3 de VL de anticuerpos específicos de CD26.
- La Figura 2c muestra la lista de secuencias de la ABR1 de VH, ABR2 de VH, ABR3 de VH, ABR1 VL, ABR2 de VL y ABR3 de VL de anticuerpos específicos de CD26.
- La Figura 3 muestra la similitud de secuencia vista en las diferentes regiones VH y VL, que pueden estar presentes en un anticuerpo según la presente invención. Las secuencias VH en el grupo 1 de VH y las secuencias VL en el grupo 1 de VL comprenden CDR idénticos.
- La Figura 4a muestra un diagrama que ilustra la estadificación de EICH cutánea de pacientes que participan en un estudio relacionado con la administración de CDina26.
- La Figura 4b muestra un diagrama que ilustra la estadificación de EICH hepática de pacientes que participan en un estudio relacionado con la administración de CDina26.
- La Figura 4c muestra un diagrama que ilustra la estadificación de EICH intestinal de pacientes que participan en un estudio relacionado con la administración de CDina26.
- La Figura 5 muestra un diagrama que ilustra recuentos absolutos de CD4.
- La Figura 6 muestra un diagrama que ilustra la incidencia acumulada proyectada de mortalidad relacionada con el trasplante de 13 pacientes de control con EICH aguda de grado III-IV, tratados con esteroides, ciclosporina y otros fármacos inmunosupresores, en comparación con 9 pacientes tratados con esteroides, ciclosporina y CDina26.
- La Figura 7 muestra un diagrama que ilustra la supervivencia actuarial proyectada de 13 pacientes de control con EICH aguda de grado III-IV, tratados con esteroides, ciclosporina y otros fármacos inmunosupresores, en comparación con 9 pacientes tratados con esteroides, ciclosporina y CDina26.
- La Figura 8 ilustra la estructura de anticuerpos preferidos según la presente invención. La Figura muestra dos grupos diferentes de cadena ligera que pueden formar un anticuerpo de la presente invención (grupo 1 de VL y grupo 3 de VL).
- La Figura 9 ilustra un análisis de citometría de flujo utilizado para determinar la capacidad de CDina26 de unirse a la CD26 expresada en la superficie celular.
- La Figura 10 es un resumen de los SEQ ID NO. Cada una de las secuencias de aminoácidos de VL puede estar presente en combinación con una de las secuencias de aminoácidos de VH en la definición de la reivindicación 1 en un anticuerpo de la presente invención, opcionalmente, en combinación además con la secuencia de aminoácidos de CL que tiene el SEQ ID NO: 48 y una secuencia de CH1-CH2-CH3 que tiene el SEQ ID NO: 49.
- La Figura 10 también indica secuencias de nucleótidos que tienen los SEQ ID NO 50 a 128, correspondientes a las secuencias de aminoácidos que tienen los SEQ ID NO 4 a 49.

La Figura 11 muestra la unión de antígeno (Ag) humano (izquierda) y porcino (derecha) en CDina26 unida, medida en unidades de resonancia (RU) Biacore®.

La Figura 12 muestra una comparación en un gráfico de barras de CDina26 unida a las 7 regiones de unión discontinuas identificadas en CD26: DYDESSGRWNCLVAR (SEQ ID NO: 146); DVTWATQERISLQWL (SEQ ID NO: 147); TTGWVGRFRPSEPHF (SEQ ID NO: 153); TFITKGTWEVIG (SEQ ID NO: 155); DYLYYISNE (SEQ ID NO: 156); SCELNPERCQYY (SEQ ID NO: 157); y SGPGLP (SEQ ID NO: 158).

### Descripción detallada de la invención

Durante los numerosos experimentos que llevan a la presente invención, los autores de la invención descubrieron sorprendentemente un anticuerpo que se puede utilizar, con resultados sumamente beneficiosos y prometedores, como medicamento, en particular, para tratar y/o prevenir al menos una de entre la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) y la anemia aplásica, al igual que para promover el prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas. El anticuerpo de la presente invención exhibe unión específica a CD26, en particular, a CD26 humana, especialmente CD26 humana presente en una célula madre o expresada en un linfocito T activado. La unión de un anticuerpo de la presente invención a CD26 humana expresada en linfocitos T activados (en particular, en subpoblaciones de CD16 + CD3 + T y CD56 + CD3 + T) es una propiedad particularmente ventajosa de un anticuerpo de la presente invención, como se discute más adelante. La razón para el uso de un anticuerpo monoclonal murino contra CD26 para tratar una EICHa resistente a los esteroides se sustenta principalmente en su capacidad de bloquear la actividad de CD26. Los experimentos realizados por los autores de la presente invención muestran que CD26 se sobreexpresa en células T estimuladas y se sobreexpresa en una cantidad menor en linfocitos citotóxicos naturales estimulados. Por el contrario, esta molécula tiene una expresión baja en el resto de células. Las células B, monocitos y células dendríticas nunca expresan CD26, las células madre mesenquimales, células endoteliales y fibroblastos tampoco expresan CD26. Un anti-CD26 de la presente invención se une específicamente a células T reguladoras activadas, lo que interfiere con su expansión y su papel en la modulación de la respuesta inmunitaria. Aunque sin deseo de limitarse a ninguna teoría, en la actualidad, se supone que los linfocitos activados son una diana de anti-CD26 y que una depleción parcial de linfocitos activados podría llevar a una modulación clínicamente relevante de al menos una de EICH, en particular EICHa, especialmente, EICHa resistente a los esteroides, anemia aplásica y enfermedad(es), trastorno(s) y/o condición (condiciones) presentes antes y/o durante y/o después de trasplante de células madre hematopoyéticas, al igual que podría promover el prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas. Aunque sin deseo de limitarse a ninguna teoría, en la actualidad, se supone que los linfocitos T del donante aún pueden organizar una reacción directamente contra las células tumorales.

El trasplante de células madre hematopoyéticas (TCH) representa un tratamiento estándar para enfermedades hematológicas y neoplasias malignas.

Aunque sin deseo de limitarse a ninguna teoría, en la actualidad, se supone que la inhibición o depleción de CD26 en células del donante al administrar uno o más anticuerpos de la presente invención, en particular, CDina26, puede mejorar el prendimiento del injerto, en particular, el prendimiento del injerto a corto plazo, al igual que puede mejorar la repoblación, en particular, repoblación competitiva, trasplante secundario y supervivencia del sujeto tratado, por ejemplo, seres humanos y ratones. Además, aunque sin deseo de limitarse a ninguna teoría, en la actualidad, se supone que, si se mejoran la migración dirigida de leucocitos y el prendimiento del injerto, en particular, al administrar al menos un anticuerpo de la presente invención, especialmente CDina26, el tiempo de recuperación de linajes hematopoyéticos se puede reducir, lo que da lugar a un fracaso menor en el prendimiento del injerto y a una mejor supervivencia global, especialmente en trasplante de SCUh (células de la sangre del cordón umbilical humano). Un anticuerpo de la presente invención para su uso como medicamento o terapia utilizando este anticuerpo puede proporcionar mejores oportunidades a los pacientes de un resultado satisfactorio después de trasplante de células hematopoyéticas. Además, uno o más anticuerpos de la presente invención contra el antígeno de CD26, en particular, CDina26, puede ofrecer beneficios clínicos importantes en los pacientes que se han sometido a trasplante de células madre hematopoyéticas para al menos uno de lo siguiente tratar una EICH aguda resistente a los esteroides y mejorar el prendimiento del injerto que está correlacionado, directamente, con la supervivencia global.

Aunque sin deseo de limitarse a ninguna teoría, en la actualidad, se supone que administrar al menos un anticuerpo de la presente invención, en particular, CDina26, puede proporcionar una actividad beneficiosa, en particular, al promover el prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas y/o prevenir y/o tratar al menos una de entre la enfermedad del injerto contra el huésped y la anemia aplásica, a través de la unión a CD26 como glucoproteína de membrana que media la ruta de señalización.

Sorprendentemente, los autores de la presente invención proporcionan uno o más anticuerpos, en particular, CDina26, lo que resuelve los problemas mencionados anteriormente.

Según un aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo, dicho anticuerpo se puede unir específicamente a la glucoproteína CD26. En particular, este anticuerpo se puede unir específicamente a CD26 humana, especialmente CD26 humana presente en célula(s) madre (en particular, célula(s) madre humana(s)) y/o a CD26

humana expresada en linfocitos T (en particular, subpoblaciones de CD16 + CD3 + T y CD56 + CD3 + T), especialmente en linfocito(s) T activado(s) (en particular, subpoblaciones de CD16 + CD3 + T y CD56 + CD3 + T). A menos que se indique explícitamente lo contrario, las expresiones CD26 y glucoproteína CD26 se utilizan indistintamente en la presente memoria.

- 5 Este anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera como se define en la reivindicación 1.

Según un aspecto, un anticuerpo, que se puede unir específicamente a CD26, comprende una región variable de cadena pesada que comprende una CDR3 (SEQ ID NO: 1) y una región variable de cadena ligera que comprende una CDR3 (SEQ ID NO: 2), en donde la secuencia de aminoácidos de la CDR3 de la región variable de cadena pesada es la de una región variable de cadena pesada de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002, y la secuencia de aminoácidos de la CDR3 de la región variable de cadena ligera es la de una región de cadena ligera de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. En particular, el anticuerpo, que se puede unir específicamente a CD26, puede comprender una cadena pesada que comprende esta región variable de cadena pesada y una cadena ligera que comprende esta región variable de cadena ligera. Las secuencias de CDR3 mencionadas anteriormente se enumeran en la Figura 2a.

Según otro aspecto, un anticuerpo, que se puede unir específicamente a CD26, comprende una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1, una CDR2 y una CDR3 y una región variable de cadena ligera que comprende una CDR1, una CDR2 y una CDR3, en donde las secuencias de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región de cadena pesada son aquellos de una región variable de cadena pesada de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002, y las secuencias de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de cadena ligera son aquellas de una región variable de cadena ligera de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. En particular, este anticuerpo, que se puede unir específicamente a CD26, puede comprender una cadena pesada que comprende esta región variable de cadena pesada y una cadena ligera que comprende esta región variable de cadena ligera. Las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 mencionadas anteriormente se enumeran en la Figura 2b.

Según otro aspecto, el anticuerpo, que se puede unir específicamente a CD26, comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en donde las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena pesada son aquellas de una región variable de cadena pesada de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002, y las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena ligera son aquellas de una región variable de cadena ligera de este anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. En particular, el anticuerpo, que se puede unir específicamente a CD26, puede comprender una cadena pesada que comprende esta región variable de cadena pesada y una cadena ligera que comprende esta región variable de cadena ligera. En particular, las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada pueden ser aquellas de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002, y/o las secuencias de aminoácidos de la cadena ligera pueden ser aquellas de una cadena ligera de este anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. En particular, el anticuerpo, que se puede unir específicamente a CD26, puede comprender las mismas secuencias de cadena pesada y las mismas secuencias de cadena ligera que un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002.

Según un aspecto, el anticuerpo, que se puede unir específicamente a CD26, comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en donde las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena pesada son aquellas de una región variable de cadena pesada de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002, y las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena ligera son aquellas de una región variable de cadena ligera de este anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. En una realización específica, un anticuerpo de la presente invención puede comprender una región variable de cadena pesada que comprende el SEQ ID NO: 26 y una región variable de cadena ligera que comprende el SEQ ID NO: 4. En particular, el anticuerpo, que se puede unir específicamente a CD26, puede comprender una cadena pesada que comprende esta región variable de cadena pesada y una cadena ligera que comprende esta región variable de cadena ligera. En particular, las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada son aquellas de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002, y/o las secuencias de aminoácidos de la cadena ligera son aquellas de una cadena ligera de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002.

55 Según una realización preferida, el anticuerpo de la presente invención se puede unir a la región de las posiciones 290-550 de los aminoácidos de la secuencia de CD26 humana, con referencia a la secuencia de CD26 humana como se publicó en la técnica anterior.

Según otra realización, el anticuerpo de la presente invención no se une específicamente a CD26 porcina. Según una realización, el epítipo de un anticuerpo anti-CD26 humano de la presente invención comprende al menos uno, por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco o más de los 358 residuos de aminoácido resultantes de la diferencia entre

CD26 humana y porcina. Por consiguiente, según esta realización de la invención, el anticuerpo reconoce por lo tanto una región diferente de este tipo entre CD26 humana y porcina.

Según una realización de la presente invención, la mezcla de anticuerpos no compromete un anticuerpo que no se une específicamente a CD26 humana.

5 Adicional o alternativamente, un anticuerpo, que se puede unir específicamente a CD26, puede comprender una región variable de cadena pesada que comprende una ABR1, una ABR2 y una ABR3 y una región variable de cadena ligera que comprende una ABR1, ABR2 y ABR3, en donde las secuencias de aminoácidos de la ABR1, ABR2 y ABR3 de la región variable de cadena pesada son aquellas de una región variable de cadena pesada de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002, y las secuencias de aminoácidos de la ABR1, ABR2 y ABR3 de la región variable de cadena ligera son aquellas de una región variable de cadena ligera de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. Las secuencias de ABR1, ABR2 y ABR3 mencionadas anteriormente se enumeran en la Figura 2c.

15 Según una realización de la presente invención, las siguientes regiones de unión a antígeno (ABR) están presentes en el anticuerpo de la presente invención:

ABR1 (cadena ligera) comprende la secuencia de aminoácidos: SSVSYMN (SEQ ID NO: 135),

ABR2 (cadena ligera) comprende la secuencia de aminoácidos: LWIYSTSNLAS (SEQ ID NO: 136),

ABR3 (cadena ligera) comprende la secuencia de aminoácidos: QQRSSYPN (SEQ ID NO: 137),

en donde, preferiblemente, ABR3 se incluye en el SEQ ID NO:2.

20 Según otra realización de la presente invención, las secuencias de ABR1 a 3 o ABR1\* a 3\* están presentes en un anticuerpo de la presente invención junto con las siguientes regiones de unión a antígeno (ABR):

ABR1 (cadena pesada) que comprende la secuencia de aminoácidos: YTFRSYDIN (ABR1h) (SEQ ID NO: 141),

ABR2 (cadena pesada) que comprende la secuencia de aminoácidos: WIGWIFPGDGSTKY (ABR2h) (SEQ ID NO: 142),

25 ABR3 (cadena pesada) que comprende la secuencia de aminoácidos: RWTVVGPGYFDV (ABR3h) (SEQ ID NO: 143),

en donde, preferiblemente, ABR3 (cadena pesada) se incluye en el SEQ ID NO:1.

30 Según una realización, las ABR se determinan según la herramienta "Paratome tool" como se publicó en Kunik V, Peters B, Ofran Y (2012) "Structural Consensus among Antibodies Defines the Antigen Binding Site", PLoS Comput Biol 8(2): e1002388.doi:10.1371/journal.pcbi.1002388; Editor: Brian Baker, Universidad de Notre Dame, Estados Unidos de América; publicado el 23 de febrero de 2012; véase también <http://ofranservices.biu.ac.il/site/services/paratome/index.html>. Las secuencias de ABR de V<sub>H</sub>/V<sub>L</sub> mencionadas anteriormente se enumeran en la Figura 2b.

35 El término "anticuerpo", como se utiliza en el contexto de la presente solicitud, puede abarcar moléculas de anticuerpo completas, moléculas de inmunoglobulina de longitud completa, en particular, moléculas de inmunoglobulina de longitud completa que existen de manera natural o moléculas de inmunoglobulina de longitud completa formadas por medio de procesos recombinantes de fragmentos de genes de inmunoglobulina. Los fragmentos de anticuerpo pueden ser, en particular, fragmentos de anticuerpo que comprenden al menos un sitio de unión anticuerpo-antígeno. En particular, los fragmentos de anticuerpo pueden exhibir unión específica a CD26, en particular, CD26 humana, que puede estar presente, por ejemplo, en una célula madre (en particular, célula madre humana) y/o expresarse en linfocito(s) T (en particular, en subpoblaciones de CD16 + CD3 + T y CD56 + CD3 + T), en particular, en linfocito(s) T activado(s). Además, el término "anticuerpo", como se utiliza en el contexto de la presente solicitud, puede abarcar proteínas de fusión, en particular, que exhiben unión específica a CD26, especialmente a CD26 humana, que pueden estar presentes en una célula madre y/o expresarse en linfocito(s) T, en particular, en linfocito(s) T activado(s). En particular, un sitio de unión anticuerpo-antígeno puede ser un sitio de unión a antígeno de un anticuerpo que comprende al menos una secuencia de CDR.

50 El término "anticuerpo" puede incluir, por ejemplo, anticuerpos monoclonales, policlonales, multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos), recombinantes, humanos, quiméricos y humanizados. Además, el término "anticuerpo" puede abarcar también proteínas de unión a antígeno expresadas de manera recombinante y péptidos sintéticos de unión a antígeno. En particular, el término "anticuerpo" puede abarcar, por ejemplo, minicuerpos y diacuerpos, preferiblemente, todos los cuales pueden exhibir unión específica a CD26, especialmente a CD26 humana. Además, el término "anticuerpo", tal como se utiliza en la presente memoria, puede abarcar inmunoglobulinas producidas *in vivo*, al igual que aquellas producidas *in vitro*, en particular, por un hibridoma. Asimismo, las expresiones "anticuerpo" o "al menos un anticuerpo" pueden abarcar mezclas de anticuerpos. En particular, la expresión "mezcla

de anticuerpos" abarca una mezcla que comprende o consiste en dos o más anticuerpos que exhiben unión específica a CD26, especialmente a CD26 humana, en particular, que comprende al menos un anticuerpo de la presente invención. Los dos o más anticuerpos presentes en la mezcla pueden ser dos o más anticuerpos diferentes, por ejemplo, dos o más anticuerpos que no tienen secuencias de aminoácidos idénticas. En particular, un anticuerpo diferente de otro anticuerpo puede ser un anticuerpo que tiene una secuencia de aminoácidos, en donde al menos un residuo de aminoácido se ha eliminado, insertado o reemplazado con un residuo de aminoácido diferente, en comparación con la secuencia de aminoácidos de dicho otro anticuerpo. Una mezcla de anticuerpos particularmente útil según la invención comprende o consiste en los anticuerpos producidos por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002, o comprende al menos uno de los anticuerpos producidos por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002.

Un anticuerpo según la presente invención puede ser un anticuerpo producido de manera recombinante. Un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo monoclonal y/o murino, en particular, un anticuerpo monoclonal murino. Como se mencionó anteriormente, al menos un anticuerpo de la presente invención puede ser una mezcla de anticuerpos que comprende al menos un anticuerpo de la presente invención, en particular, que comprende o consiste en los anticuerpos producidos por el depósito de hibridoma PD 12002, CDina26.

La expresión "anticuerpo monoclonal" se refiere a una población de anticuerpos sustancialmente homogénea implicada en el reconocimiento y la unión altamente específicos de un determinante antigénico único o epítopo. Esto contrasta con los anticuerpos policlonales que incluyen típicamente diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes antigénicos. La expresión "anticuerpo monoclonal" abarca tanto anticuerpos monoclonales intactos como de longitud completa, al igual que fragmentos de anticuerpo (tales como Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv), mutantes de cadena sencilla (scFv), proteínas de fusión que comprenden una porción de anticuerpo y cualquier otra molécula de inmunoglobulina modificada que comprende un sitio de reconocimiento de antígeno. Además, "anticuerpo monoclonal" se refiere a anticuerpos de este tipo fabricados de cualquier número de maneras que incluye, pero no se limita a, por hibridoma, selección de fagos, expresión recombinante y animales transgénicos.

La expresión "anticuerpo humanizado" se refiere a formas de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) que son cadenas de inmunoglobulina específica, inmunoglobulinas quiméricas o fragmentos de las mismas que contienen secuencias no humanas (por ejemplo, murinas) mínimas. Típicamente, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas en las que se reemplazan los residuos de la región determinante de complementariedad (CDR) con residuos de la CDR de una especie no humana (por ejemplo, ratón, rata, conejo y hámster) que tienen la especificidad, afinidad y capacidad deseadas (Jones *et al.*, 1986, *Nature*, 321:522-525; Riechmann *et al.*, 1988, *Nature*, 332:323-327; Verhoeyen *et al.*, 1988, *Science*, 239: 1534-1536). En algunos casos, los residuos de la región de marco Fv (FR) de una inmunoglobulina humana se reemplazan con los residuos correspondientes en un anticuerpo de una especie no humana que tiene la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. El anticuerpo humanizado se puede modificar además al sustituir residuos adicionales en la región de marco Fv y/o en los residuos no humanos reemplazados para refinar y optimizar la especificidad, afinidad y/o capacidad del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente todos de al menos uno y, típicamente dos o tres, dominios variables que contienen todas o sustancialmente todas de las regiones CDR que se corresponden con la inmunoglobulina no humana, mientras que todas o sustancialmente todas de las regiones FR son aquellas de una secuencia de consenso de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado puede comprender también al menos una porción de una región o dominio constante (Fc) de inmunoglobulina, típicamente de una inmunoglobulina humana.

La expresión "anticuerpos quiméricos" se refiere a anticuerpos en donde la secuencia de aminoácidos de la molécula de inmunoglobulina deriva de dos o más especies. Típicamente, la región variable tanto de cadenas ligeras como pesadas se corresponde con la región variable de anticuerpos derivados de una especie de 60 mamíferos (por ejemplo, ratón, rata, conejo, etc.) con la especificidad, afinidad y capacidad deseadas, mientras que las regiones constantes son homólogas a las secuencias en anticuerpos derivados de otro (normalmente humano) para evitar provocar una respuesta inmunitaria en estas especies. Típicamente, los anticuerpos quiméricos utilizan regiones variables de roedor (VH y VL) y regiones constantes humanas, para producir un anticuerpo con dominios predominantemente humanos. La producción de anticuerpos quiméricos de este tipo se conoce en la técnica y se puede conseguir mediante medios estándar. Las secuencias de regiones constantes humanas serán aparentes a un experto y/o están disponibles en bases de datos públicas (por ejemplo, Centro Nacional de Información Biotecnológica de los EE. UU. (NCBI), Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos).

La expresión "fragmento de anticuerpo" se puede referir a un fragmento, tal como F(ab')<sub>2</sub>, Fab, F(ab)<sub>2</sub>, Fab', Fv, dAb, scFv, CDR1 de región variable de cadena pesada, CDR2 de región variable de cadena pesada, CDR3 de región variable de cadena pesada, CDR1 de región variable de cadena ligera, CDR2 de región variable de cadena ligera, CDR3 de región variable de cadena ligera, fragmento variable de cadena sencilla (scFv), VH, VL y similares, todos los cuales preferiblemente pueden exhibir unión específica a CD26, especialmente a CD26 humana. Un "fragmento de anticuerpo" se puede unir específicamente al mismo antígeno que reconoce el anticuerpo completo o anticuerpo de longitud completa. En particular, un "fragmento de anticuerpo" puede ser una porción de un anticuerpo intacto.

Los fragmentos de anticuerpo que reconocen epítopos específicos, en particular, que se unen específicamente a CD26, se pueden generar por un experto aplicando técnicas conocidas en la técnica. Los fragmentos de un

anticuerpo, en particular, fragmentos de un anticuerpo que se pueden unir específicamente a CD26, especialmente a CD26 humana, tales como, por ejemplo, fragmentos de uno o más anticuerpos anti-CD26 producidos por el depósito de hibridoma PD 12002, CDina26, se pueden preparar, por ejemplo, tratando enzimáticamente el anticuerpo para obtener fragmentos de anticuerpo. Además, un fragmento de anticuerpo se puede producir por medio de expresión de ADN que codifica el fragmento en un huésped, tal como, por ejemplo, *E. coli*, *B. subtilis*, *P. pastoris*, *K. lactis*. Un fragmento de anticuerpo se puede preparar, por ejemplo, por medio de hidrólisis proteolítica de un anticuerpo de longitud completa. Las enzimas, en particular, enzimas proteolíticas, para obtener fragmentos de anticuerpo son conocidas por un experto e incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, papaína, pepsina y/o plasmina. En particular, un fragmento de anticuerpo se puede preparar, por ejemplo, por medio de digestión con pepsina o papaína de anticuerpos de longitud completa aplicando procedimientos conocidos por un experto, como se menciona, por ejemplo, en el documento US 2010/0196266 A1. Los procedimientos de este tipo se describen, por ejemplo, en Goldenberg, y en las patentes estadounidenses n.º 4.036.945 y 4.331.647, al igual que en las referencias citadas en la presente memoria. Los procedimientos para preparar fragmentos de anticuerpo se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en Nisonoff *et al.*, Arch Biochem. Biophys. 89: 230 (1960); Porter, Biochem. J. 73: 119 (1959), Edelman, Methods in Enzymology Vol. 1, página 422 (Academic Press 1967), y Coligan *et al.*, Current Protocols in Immunology, Vol. 1, (John Wiley e hijos 1991), p. 2.8.1-2.8.10 y 2.10.-2.10.4.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "cadena pesada" incluye una cadena pesada de longitud completa y fragmentos de la misma, preferiblemente, que son capaces de unirse específicamente a CD26, especialmente a CD26 humana. Una cadena pesada de longitud completa puede incluir una región variable de cadena pesada, VH, y tres regiones, CH1, CH2 y CH3.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "cadena ligera" se puede referir, en particular, a una cadena ligera de longitud completa y a fragmentos de la misma, preferiblemente, que son capaces de unirse específicamente a CD26, especialmente a CD26 humana. Una cadena ligera de longitud completa puede comprender una región variable de cadena ligera, VL, y una región constante de cadena ligera, CL.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "región variable" de un anticuerpo se puede referir a una región variable de la cadena ligera del anticuerpo o a una región variable de la cadena pesada del anticuerpo o a una combinación de las regiones variables mencionadas anteriormente. Las regiones variables de la cadena ligera y pesada pueden comprender cada una cuatro regiones de marco (FR) conectadas por medio de tres regiones determinantes de complementariedad (CDR). En la actualidad, dos definiciones de ubicación de CDR se encuentran en uso en la técnica. La primera es la definición de "variabilidad de secuencia" de Kabat *et al.* ("Sequences of Proteins of Immunological Interest", 4ª edición, Washington, D.C., Servicio Público de Salud, N.I.H). Según una realización preferida, la definición de Kabat *et al.* se utiliza en la presente solicitud. De manera alternativa, las regiones CDR se pueden definir también utilizando la definición de variabilidad estructural de Chothia y Lesk (Chothia *et al.*, J. Mol. Biol. 1987, 196(4):901-17).

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "región constante" de un anticuerpo se refiere a una región constante de la cadena ligera del anticuerpo o a una región constante de la cadena pesada del anticuerpo o a una combinación de las regiones constantes mencionadas anteriormente.

Para producir anticuerpos, en particular, anticuerpos humanos, humanizados, quiméricos y fragmentos de los mismos, por ejemplo, cualquiera de los métodos descritos en el documento US 2010/0196266 A1 se puede utilizar.

Los fragmentos de anticuerpo se pueden producir por medio de varios métodos que incluyen, pero no se limitan a, los siguientes métodos, tal como se describen en el documento US 2010/0196266 A1:

Los fragmentos F(ab)<sub>2</sub> se pueden generar por medio de digestión con pepsina de la molécula de anticuerpo. Los fragmentos Fab' se pueden obtener, por ejemplo, reduciendo el (los) puente(s) disulfuro de los fragmentos F(ab)<sub>2</sub>. De manera alternativa, las genotecas de expresión de Fab' se pueden construir, por ejemplo, como se describe, por ejemplo, por Huse *et al.* (Science 1989, 246:1274-1281). Las genotecas de expresión Fab' permiten una identificación de fragmentos Fab' monoclonales que tienen una especificidad de interés, en particular, de fragmentos que se unen a CD26.

Los fragmentos F(ab)<sub>2</sub> se pueden producir por medio de digestión con papaína de un anticuerpo. Los fragmentos Fab se pueden obtener por medio de reducción de disulfuro. Un "fragmento Fab" representa, en particular, un fragmento que comprende una cadena ligera y la CH1 y regiones variables de una cadena pesada. La cadena pesada de una molécula de Fab no se puede unir por medio de enlace disulfuro a otra molécula de cadena pesada.

Además, un fragmento de anticuerpo puede ser también una región variable única o un péptido que comprende o consiste en una única región determinante de complementariedad (CDR).

Asimismo, el anticuerpo de la presente invención puede ser un diacuerpo. Tal como se utiliza en la presente memoria, los "diacuerpos" pueden describir, en particular, fragmentos de anticuerpo pequeños con dos sitios de unión a antígeno, dichos fragmentos comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) conectado a un dominio variable de cadena ligera (VL) en la misma cadena polipeptídica (VH-VL). A menos que se mencione explícitamente lo contrario, las expresiones dominio variable y región variable se utilizan indistintamente en la

presente memoria. Los diacuerpos y las técnicas para su producción se discuten, por ejemplo, en el documento EP 404 097, la publicación internacional WO 93/11161, y en Hollinger *et al.*, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU. 90: 6444-6448.

5 Además, el anticuerpo de la presente invención puede ser una molécula de Fv de cadena sencilla. Una molécula de Fv de cadena sencilla (abreviada como scFv) comprende un dominio VL y un dominio VH, que se pueden asociar para formar un sitio de unión, en particular, para CD26. Estos dos dominios se unen además de manera covalente por medio de un enlazador peptídico, tal como, por ejemplo, por medio de un péptido que comprende entre 1 a 25 residuos de aminoácido. A menos que se mencione explícitamente lo contrario, las expresiones dominio VL y región VL se utilizan indistintamente en la presente memoria. Asimismo, a menos que se mencione explícitamente lo contrario, las expresiones dominio VH y región VH se utilizan indistintamente en la presente memoria. Los métodos para obtener moléculas de scFv se describen, por ejemplo, en los documentos US 4.704.692, US 4.946.778, R. Raag y M. Whitlow, "Single Chain Fvs." FASEB Vol. 9:73-80 (1995) y R. E. Bird y B. W. Walker, "Single Chain Antibody Variable Regions," TIBTECH, Vol. 9: 132-137 (1991).

15 Además, el término anticuerpo, tal como se utiliza en la presente memoria, abarca anticuerpos de dominio único. Los métodos para preparar anticuerpos de dominio único (DAB) son conocidos por un experto y se describen, por ejemplo, en Cossins *et al.* (2006, Prot Express Purif 51 :253-259).

20 Según un aspecto descrito, un anticuerpo o fragmento del mismo puede contener al menos una CDR3 de cadena pesada y al menos una CDR3 de cadena ligera, en particular, un anticuerpo o fragmento del mismo según la presente invención puede contener la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 1, al igual que al menos una de las secuencias descritas en los SEQ ID NO: 2 y 3.

Los fragmentos de anticuerpo pueden comprender al menos 4 aminoácidos, al menos 5 aminoácidos, al menos 7 aminoácidos, al menos 9 aminoácidos, en particular, al menos 15 aminoácidos. Un fragmento de anticuerpo de la presente invención puede tener cualquier límite de tamaño superior y puede tener, por ejemplo, solamente un residuo de aminoácido menos que el anticuerpo de longitud completa del que se obtiene.

25 El anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo biespecífico, que es capaz de unirse a CD26, en particular, a CD26 humana. Los anticuerpos biespecíficos se pueden producir por medio de varios métodos que incluyen, por ejemplo, fusión de hibridomas o unión de fragmentos Fab'. Los métodos de este tipo se describen en, por ejemplo, Songsivilai *et al.*, 1990, Clin. Exp. Immunol. 79: 315-321; Kostelny *et al.*, 1992, J. Immunol. 148: 1547-1553.

30 Según una realización, el anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo monoclonal. Los métodos para preparar anticuerpos monoclonales contra un antígeno diana se conocen en la técnica, como se puede ver, por ejemplo, en Coligan *et al.* (eds.), Current Protocols in Immunology, Vol. 1, páginas 2.5.1-2.6.7 (John Wiley e hijos 1991), Kohler y Milstein, Nature 256: 495 (1975), y en el documento US 2010/0196266 A1. Los anticuerpos monoclonales son obtenibles, por ejemplo, por medio de métodos conocidos por un experto, tales como los descritos en el documento US 2010/0196266 A1. En particular, los anticuerpos monoclonales son obtenibles por medio de métodos que comprenden una o más, preferiblemente todas, de las siguientes etapas: inyectar a mamífero(s), por ejemplo, un ratón, con una composición que comprende un antígeno, retirar el bazo de este (estos) mamífero(s) inyectado(s) para obtener linfocitos B, fusionar los linfocitos B así obtenidos con células de mieloma para producir hibridomas, clonar los hibridomas, seleccionar al menos un clon positivo que produce anticuerpos para el antígeno, cultivar el al menos un clon positivo que produce anticuerpos para el antígeno y aislar los anticuerpos de los cultivos de hibridomas.

35 Los AcM (anticuerpos monoclonales) se pueden aislar y purificar a partir de los cultivos de hibridoma utilizando procedimientos conocidos, tales como los descritos en el documento US 2010/0196266 A1. En particular, se pueden aplicar uno o más procedimientos de aislamiento y/o purificación seleccionados de entre el grupo que consiste en cromatografía por exclusión de tamaño, cromatografía de afinidad, en particular, con Protein-A Sepharose y cromatografía de intercambio de iones. Las técnicas de aislamiento y/o purificación para anticuerpos se describen, por ejemplo, en Baines *et al.*, "Purification of Immunoglobulin G (IgG)," en Methods in Molecular Biology, Vol. 10, páginas 79-104 (The Humana Press, Inc. 1992), al igual que en Coligan *et al.*, *supra*, páginas 2.7.1-2.7.12 y páginas 2.9.1-2.9.3.

40 En particular, la expresión "anticuerpo monoclonal" puede describir un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, en donde los anticuerpos individuales son idénticos excepto por posibles mutaciones que se dan de manera natural que pueden estar presentes en bajas cantidades.

45 Después del aumento inicial de anticuerpos del inmunógeno, en particular, después del aumento inicial de anticuerpos que se pueden unir específicamente a CD26, los anticuerpos se pueden secuenciar y producir entonces utilizando técnicas recombinantes. La humanización y quimerización de anticuerpos de mamíferos (por ejemplo, murinos) no humanos y de fragmentos de anticuerpo son conocidas por un experto.

50 El anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo humanizado, en particular, un anticuerpo monoclonal humanizado. En particular, la expresión "anticuerpo humanizado" puede abarcar anticuerpos producidos por técnicas

- de ADN recombinante, en las que algunos o todos los aminoácidos de una cadena ligera o pesada de inmunoglobulina humana que no se requieren para unión a antígeno (tales como, por ejemplo, algunos o todos los aminoácidos de regiones constantes y regiones de marco de dominios variables) se utilizan para sustituir los correspondientes aminoácidos de la cadena ligera o pesada del anticuerpo de mamífero (por ejemplo, murino) no humano. Los métodos para producir anticuerpos monoclonales humanizados se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en las siguientes publicaciones: Jones *et al.*, *Nature* 321: 522 (1986), Carter *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. EE. UU.* 89: 4285 (1992), Riechmann *et al.*, *Nature* 332: 323 (1988), Verhoeven *et al.*, *Science* 239: 1534 (1988), Sandhu, *Crit. Rev. Biotech.* 12: 437 (1992), y Singer *et al.*, *J. Immunol.* 150: 2844 (1993). Un anticuerpo, tal como, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal de mamífero (por ejemplo, murino) no humano o quimérico, en particular, un anticuerpo monoclonal de mamífero (por ejemplo, murino) no humano o quimérico de la presente invención, se puede humanizar al transferir las CDR de mamífero (por ejemplo, de ratón) no humanas de las cadenas variables pesadas y ligeras de la inmunoglobulina de mamífero no humana, por ejemplo, inmunoglobulina de ratón, en los dominios variables correspondientes de un anticuerpo humano, como se describe en el documento US 2010/0196266 A1. Las regiones de marco (FR) de mamífero no humanas, por ejemplo, regiones de marco (FR) de ratón, en el anticuerpo monoclonal quimérico se pueden reemplazar también con secuencias de FR humanas. Por ejemplo, un anticuerpo de la presente invención que es una versión humanizada de un anticuerpo de mamífero (por ejemplo, murino) no humano para CD26 puede tener tanto en sus regiones constantes de cadenas ligeras como pesadas de un anticuerpo humano y/o regiones de marco de los dominios variables de un anticuerpo humano, y/o CDR del anticuerpo de mamífero (por ejemplo, murino) no humano.
- Para mejorar la afinidad del anticuerpo de un anticuerpo humanizado, en particular, para mejorar su capacidad de unión a CD26, se pueden llevar a cabo etapas de modificación adicionales, como se describe, por ejemplo, en el documento US 2010/0196266 A1. En particular, uno o más residuos de aminoácido en las regiones FR humanas se pueden reemplazar con residuos de aminoácido presentes en las posiciones correspondientes en el anticuerpo, en particular, murino, humano para mantener o mejorar la afinidad de unión del anticuerpo humanizado al antígeno. Los métodos que un experto puede aplicar se describen, por ejemplo, en Tempest *et al.*, *Biotechnology* 9:266 (1991) y Verhoeven *et al.*, *Science* 239: 1534 (1988). Por ejemplo, los residuos de aminoácidos de FR (región de marco) humanos que difieren de sus partes complementarias de mamífero no humanas, por ejemplo, partes complementarias murinas y se ubican cerca o directamente adyacentes a uno o más residuos de aminoácidos de CDR pueden representar candidatos para la sustitución.
- El anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo humano. En particular, la expresión "anticuerpo humano" puede abarcar un anticuerpo, que tiene una secuencia de aminoácidos que correspondiente a la de un anticuerpo producido por un ser humano y/o que se ha fabricado utilizando técnicas para producir anticuerpos humanos. En particular, la expresión "anticuerpo humano" puede incluir anticuerpos que comprenden al menos un polipéptido de cadena pesada humano o al menos un polipéptido de cadena ligera humano.
- En particular, el anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo completamente humano. En el contexto de la presente solicitud, la expresión "anticuerpo completamente humano" se puede referir, en particular, a un anticuerpo que contiene polipéptidos de cadena pesada humanos y de cadena ligera humanos. Los métodos para producir anticuerpos humanos, en particular, anticuerpos completamente humanos, utilizando, por ejemplo, planteamientos combinatorios o animales transgénicos transformados con loci de inmunoglobulina humana, son conocidos por un experto, como se puede ver, por ejemplo, en el documento US 2010/0196266 A1. Los métodos de este tipo se describen, por ejemplo, en Conrad y Scheller, 2005, *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 8:117-26; Mancini *et al.*, 2004, *New Microbiol.* 27:315-28; Brekke y Loset, 2003, *Curr. Opin. Pharmacol.* 3:544-50). Un anticuerpo completamente humano es obtenible también, por ejemplo, utilizando métodos de transfección genética o cromosómica o utilizando tecnología de presentación de fagos. Los métodos de transfección genética o cromosómica, al igual que la tecnología de presentación de fagos, se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en McCafferty *et al.*, 1990, *Nature* 348:552-553. En particular, los anticuerpos humanos se pueden obtener también introduciendo loci de inmunoglobulina humana en animales transgénicos, tales como, por ejemplo, ratones, cabras o vacas, en donde los genes de inmunoglobulina endógena se desactivaron completa o parcialmente. Los procedimientos de este tipo se describen, por ejemplo, en los documentos US 5.545.806, US 5.633.425 y US 5.661.016. Según un procedimiento alternativo, el anticuerpo humano se puede obtener inmortalizando linfocitos B humanos que producen un anticuerpo dirigido contra un antígeno diana, en particular, que producen un anticuerpo para CD26. Los procedimientos de este tipo se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner *et al.*, 1991, *J. Immunol.*, 147 (1):86-95.
- En particular, la técnica de presentación de fagos se puede utilizar para generar un anticuerpo humano, como se conoce en la técnica y como se describe, por ejemplo, en Dantas-Barbosa *et al.*, 2005, *Genet. Mol. Res.* 4:126-40 y en el documento US 2010/0196266 A1. Los anticuerpos humanos se pueden generar a partir de seres humanos sanos o a partir de seres humanos que tienen un cuadro clínico particular (Dantas-Barbosa *et al.*, 2005). Esta técnica permite construir anticuerpos humanos a partir de un individuo enfermo.
- Por ejemplo, se puede construir una colección de presentación de fagos de fragmentos de anticuerpo Fab humanos a partir de pacientes con osteosarcoma, como se describe en Dantas-Barbosa *et al.* (2005, *supra*) y como se discute, por ejemplo, en el documento US 2010/0196266 A1. En particular, el ARN total se puede obtener de

linfocitos circulantes (Id.) Fab recombinante se puede clonar a partir de repertorios de anticuerpos de cadena  $\mu$ ,  $\gamma$  y  $\kappa$  e insertar en una colección de presentación de fagos (Id.). Los ARN se pueden convertir en ADNc y utilizarlos para proporcionar genotecas de ADNc de Fab utilizando cebadores específicos contra secuencias de inmunoglobulina de cadena pesada y ligera (Marks *et al.*, 1991, J. Mol. Biol. 222:581-97). En una etapa siguiente, la construcción de la genoteca se puede realizar como la conoce un experto y como se describe, por ejemplo, en Andris-Widhopf *et al.* (2000), Phage Display Laboratory Manual, 1ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, pp. 9.1 to 9.22). Los fragmentos Fab finales se pueden digerir con endonucleasas de restricción e insertar en un genoma bacteriófago para producir la colección de presentación de fagos. Por último, las colecciones así obtenidas se pueden cribar utilizando métodos de presentación de fagos estándar, como se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en Pasqualini y Ruoslahti, 1996, Nature 380:364-366; Pasqualini, 1999, The Quart. J. Nucl. Med. 43:159-162). La presentación de fagos se puede realizar en varios formatos, como se puede ver, por ejemplo, en Johnson y Chiswell, 1993, Current Opinion in Structural Biology 3:5564-571.

Asimismo, los anticuerpos humanos se pueden generar por células B activadas *in vitro*. Este procedimiento se describe, por ejemplo, en los documentos US 5.567.610 y US 5.229.275.

El anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo quimérico. En particular, un anticuerpo quimérico puede ser una proteína recombinante, en donde las regiones variables de un anticuerpo humano se han reemplazado con las regiones variables de un anticuerpo de mamífero no humano, tal como, por ejemplo, un anticuerpo de ratón o un anticuerpo de conejo, incluidas las regiones determinantes de complementariedad (CDR) del anticuerpo de mamífero no humano, por ejemplo, del anticuerpo de ratón o del anticuerpo de conejo. Los procedimientos para clonar dominios variables de inmunoglobulina de un mamífero no humana, en particular, dominios variables de inmunoglobulina murina, se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en Orlandi *et al.*, Proc. Nat'l Acad. Sci. EE. UU. 86: 3833 (1989) y en el documento US 2010/0196266 A1. Los métodos para obtener anticuerpos quiméricos son conocidos por un experto, como se puede ver, por ejemplo, en Leung *et al.*, Hybridoma 13:469 (1994), en donde se describe la producción de una quimera LL2.

Los anticuerpos de la presente invención pueden comprender además uno o más restos adicionales para llevar a cabo las funciones deseadas. En particular, los anticuerpos pueden incluir uno o más restos de toxinas (tales como, por ejemplo, toxoide tetánico) o radionúclido(s) y/o uno o más restos (tales como, por ejemplo, biotina, resto fluorescente, resto radioactivo, marcador de histidina u otros marcadores peptídicos) para facilitar el aislamiento y/o detección y/o direccionamiento, en donde dicho marcador preferiblemente no altera o fundamentalmente no altera la especificidad de unión de dicho anticuerpo.

Las expresiones "tiene especificidad para", "exhibe una unión específica a", "capaz de unirse específicamente a" y "se une específicamente a" se utilizan indistintamente en la presente solicitud y pueden indicar, en particular, que el anticuerpo reacciona o se asocia más frecuentemente, más rápidamente, con duración mayor, con afinidad mayor o con alguna combinación de lo anterior a un epítipo o proteína que con sustancias alternativas, incluidas proteínas no relacionadas. Según una realización, "que se une" y "que se une específicamente", al igual que "anticuerpo que se une a" y "anticuerpo que se une específicamente a", se pueden utilizar indistintamente en el contexto de la presente invención.

En ciertas realizaciones, un anti-CD26 descrito en la presente memoria se une a CD26 humana con una velocidad de disociación cinética ( $K_{off}$ ) de aproximadamente entre  $1 \cdot e^{-3}$  a  $1 \cdot e^{-5} s^{-1}$ , preferiblemente, entre  $5 \cdot e^{-3}$  a  $5 \cdot e^{-4} s^{-1}$ , más preferiblemente, entre  $8 \cdot e^{-3}$  a  $3 \cdot e^{-4} s^{-1}$ , en particular, aproximadamente  $1,32 \cdot e^{-4} s^{-1}$ .

En ciertas realizaciones, un anti-CD26 descrito en la presente memoria se une a CD26 humana con una constante de disociación cinética ( $K_D$ ) de aproximadamente entre  $5 \cdot e^{-8}$  a  $5 \cdot e^{-10} M$ , preferiblemente, entre  $2 \cdot e^{-9}$  a  $1 \cdot e^{-10} M$ , más preferiblemente, entre  $3 \cdot e^{-9}$  a  $7 \cdot e^{-9} M$ , en particular, aproximadamente  $5,02 \cdot e^{-9} M$ .

En ciertas realizaciones, un anti-CD26 descrito en la presente memoria se une a CD26 humana con una constante de asociación cinética ( $K_{on}$ ) de aproximadamente entre  $5 \cdot e^3$  a  $1 \cdot e^5$  1/Ms, preferiblemente, entre  $1 \cdot e^4$  a  $5 \cdot e^4$  1/Ms, más preferiblemente, entre  $1,5 \cdot e^4$  a  $3,5 \cdot e^4$  1/Ms, en particular, aproximadamente  $2,63 \cdot e^4$  1/Ms.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-CD26 descrito en la presente memoria se une a CD26 humana con una constante de disociación de aproximadamente 1 nM o menos, aproximadamente 3 nM o menos, aproximadamente 6 nM o menos, aproximadamente 12 nM o menos, aproximadamente 30 nM o menos, aproximadamente 60 nM o menos, aproximadamente 200 nM o menos.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-CD26 descrito en la presente memoria se une a CD26 humana con una constante de disociación de entre aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 10 nM, entre aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 6 nM, entre aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 3 nM, o entre aproximadamente 0,1 nM a aproximadamente 1 nM.

Los anticuerpos de la presente invención se pueden someter a ensayo para unión específica por medio de cualquier método conocido por un experto, que incluye, pero no se limita a, sistemas de ensayo competitivo y no competitivo que utilizan técnicas tales como análisis Biacore®, análisis FACS, inmunofluorescencia, inmunocitoquímica, Western blots, radioinmunoensayos, ELISA, inmunoensayos de tipo sándwich, ensayos de inmunoprecipitación, reacciones

de precipitación, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, ensayos de fijación del complemento, ensayos inmunoradiométricos, inmunoensayos fluorescentes e inmunoensayos de proteína A. Los ensayos de este tipo se describen, por ejemplo, en Ausubel *et al.*, eds., 1994, *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 1, John Wiley e hijos, Inc., Nueva York y en el documento US 7.982.013 B2. Preferiblemente, se puede llevar a cabo el análisis Biacore®.

Los anticuerpos naturales se pueden componer de dos o más subunidades heterodiméricas, cada una contiene una cadena pesada (H) y una ligera (L). Un anticuerpo natural individual puede tener un tipo de cadena L y un tipo de cadena H, que se mantienen juntas por medio de enlaces disulfuro para formar una subunidad heterodimérica.

En particular, el término "péptido" se puede referir a un compuesto que incluye dos o más aminoácidos. Los aminoácidos se pueden unir por medio de un enlace peptídico. Un péptido puede comprender aminoácidos que existen de manera natural y/o aminoácidos que no existen de manera natural; en particular, un péptido puede comprender L-aminoácidos y/o D-aminoácidos. Los péptidos cortos, por ejemplo, péptidos que tienen menos de diez unidades de aminoácidos, se denominan a veces como "oligopéptidos". Otros péptidos que tienen un gran número de residuos de aminoácido, por ejemplo, hasta 100 aminoácidos o más, se pueden denominar como "polipéptidos". Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "polipéptido" se puede referir a cualquier péptido que contiene tres o más aminoácidos. Tal como se utiliza en la presente memoria, cualquier referencia a un "polipéptido" incluye también un oligopéptido, y cualquier referencia a un "péptido" incluye polipéptidos, oligopéptidos y proteínas.

Un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo de cualquier clase. En particular, un anticuerpo de la presente invención puede tener un isotipo de anticuerpo seleccionado de entre el grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA, IgD e IgE. En particular, un anticuerpo de la presente invención puede ser de clase IgG2, especialmente, de clase IgG 2B. El término "isotipo", tal como se utiliza en la presente memoria, se puede referir, en particular, a la clase de anticuerpo (tal como, por ejemplo, IgG) que se codifica por genes de región constante de cadena pesada. Las secuencias de regiones constantes de inmunoglobulina humana serán aparentes a un experto y/o están disponibles en bases de datos públicas (por ejemplo, Centro Nacional de Información Biotecnológica de los EE. UU. (NCBI), Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos).

Además, un anticuerpo de la presente invención se une específicamente a CD26 y puede tener una región variable de cadena ligera, dicha región variable de cadena ligera comprende una variante de una CDR1 de VL, CDR2 de VL o CDR3 de VL de la región variable de cadena ligera de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. Asimismo, un anticuerpo de la presente invención se une específicamente a CD26 y puede tener una región variable de cadena pesada, dicha región variable de cadena pesada comprende una variante de una CDR1 de VH, CDR2 de VH o CDR3 de VH de la región variable de cadena pesada de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. En una realización, una variante de CDR de VH o VL puede tener al menos un 90 %, preferiblemente, al menos un 98 %, más preferiblemente, al menos un 99 % de identidad de secuencia con la CDR de VH o VL correspondiente de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. Alternativamente, una variante de CDR de VH o VL puede ser una CDR de VH o VL de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002, en donde no más de 5, 4, 3, 2, más preferiblemente, 1 residuo(s) de aminoácido, respectivamente, se ha(n) eliminado, insertado o reemplazado con un residuo de aminoácido diferente del residuo de aminoácido reemplazado. En una realización, el reemplazo de aminoácidos es un cambio conservador. En una realización, las CDR de VH y VL de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002 se enumeran en la Figura 2b.

Asimismo, un anticuerpo de la presente invención se une específicamente a CD26 y puede tener una región variable de cadena ligera, dicha región variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre las variantes de una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 6 a 21. Un "cambio de aminoácidos conservador" es un cambio, en donde un residuo de aminoácido se reemplaza con otro residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. El término se utiliza indistintamente con "sustitución de aminoácidos conservadora" o "variación de aminoácidos conservadora". Las familias de residuos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares conocidas en la técnica, que incluyen cadenas laterales básicas, cadenas laterales acídicas, cadenas laterales polares no cargadas, cadenas laterales apolares, cadenas laterales beta-ramificadas y cadenas laterales aromáticas, se discuten, por ejemplo, en el documento US 7.982.013 B2, en particular, en la columna 22 del mismo. Por ejemplo, una sustitución de una fenilalanina por una tirosina es una sustitución conservadora. Preferiblemente, el anticuerpo obtenido después de una sustitución conservadora se une específicamente a CD26, en particular, a CD26 humana. Los métodos para identificar sustituciones de aminoácidos y nucleótidos conservadoras que no eliminan la unión a antígeno se conocen en la técnica (véase, por ejemplo, Brummell *et al.*, *Biochem.* 32: 1180-1 187 (1993); Kobayashi *et al.*, *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999); y Burks *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU.* 94:412-417 (1997)).

En variantes de secuencias de aminoácidos que comprenden una o más secuencias de CDR, todas las secuencias de CDR o al menos toda(s) la(s) secuencia(s) de CDR3 pueden permanecer sin cambiar. En particular, en variantes de secuencias de aminoácidos que comprenden una o más secuencias de aminoácidos descritas en los SEQ ID NO: 1, 2 y 3, la una o más secuencias de aminoácidos descritas en los SEQ ID NO: 1, 2 y 3 pueden permanecer sin cambiar. En variantes de secuencias de nucleótidos que comprenden secciones que codifican una o más secuencias de CDR, todas las secciones que codifican secuencias de CDR o al menos todas las secciones de

secuencias de nucleótidos que codifican secuencia(s) de CDR3 pueden permanecer sin cambiar. En particular, en variantes de secuencias de nucleótidos que comprenden una o más secuencias que codifican una o más secuencias descritas en los SEQ ID NO: 1, 2 y 3, al menos secciones de secuencias de nucleótidos que codifican uno o más de los SEQ ID NO: 1, 2 y 3 pueden permanecer sin cambiar. En un anticuerpo que comprende una variante de una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 4 a 21, la región variable de cadena ligera puede comprender los residuos de aminoácidos 8-104 de los SEQ ID NO: 4 o 5 y/o en un anticuerpo que comprende una variante de una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 22 a 47, la región variable de cadena pesada puede comprender los residuos de aminoácidos 7-112 del SEQ ID NO: 26.

El "porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos" con respecto a una secuencia polipeptídica, como se describe en la presente memoria, se define como el porcentaje de residuos de aminoácido en una secuencia candidata de interés que se va a comparar que es idéntica con los residuos de aminoácido en una secuencia polipeptídica particular como se describe en la presente memoria (por ejemplo, una secuencia polipeptídica particular caracterizada por un SEQ ID NO en la lista de secuencias), después de alinear las secuencias e introducir espacios, si fuera necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia y sin considerar ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia. Un alineamiento de secuencia realizado para determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos se puede llevar a cabo según procedimientos conocidos en la técnica, como se describe, por ejemplo, en el documento EP 1 241 179 B1, que incluye, en particular, de la página 9, línea 35, a la página 10, línea 40, con las definiciones utilizadas en ese documento y la Tabla 1 en relación a posibles sustituciones conservadoras. Por ejemplo, un experto puede utilizar un *software* informático públicamente disponible. Los métodos con programas informáticos para determinar la identidad de secuencia incluyen, pero no se limitan a, los *softwares* BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Según una realización preferida, el programa de alineamiento de *software* utilizado puede ser BLAST. Un experto puede determinar los parámetros apropiados para medir el alineamiento, que incluyen cualquier algoritmo necesitado para alcanzar el alineamiento máximo sobre la longitud completa de las secuencias sometidas a comparación. Según una realización preferida, el % de los valores de identidad se puede generar utilizando el programa informático WU-BLAST-2 (Altschul *et al.*, 1996, Methods in Enzymology 266:460-480), como se describe, por ejemplo, en el documento EP 1 241 179 B1. Según una realización preferida, se utilizan los siguientes parámetros, cuando se lleva a cabo el programa informático WU-BLAST-2: La mayoría de los parámetros de búsqueda de WU-BLAST-2 se establecieron con los valores por defecto. Los parámetros ajustables se establecieron con los siguientes valores: espacio de solapamiento ("overlap span") = 1, fracción de solapamiento ("overlap fraction") = 0,125, umbral de palabras ("word threshold") T = 11 y matriz de puntuación ("scoring matrix") = BLOSUM62. Los parámetros HSP S y HSP S2, que son valores dinámicos utilizados por BLAST-2, se establecen por el mismo programa dependiendo de la composición de la secuencia de interés y de la composición de la base de datos en la que se busca la secuencia. Sin embargo, los valores se pueden ajustar para aumentar la sensibilidad. Un % de un valor de identidad de secuencia se puede determinar al dividir (a) el número de residuos de aminoácidos idénticos compatibles entre una secuencia de aminoácidos particular, como se describe en la presente memoria, que se somete a comparación (por ejemplo, una secuencia polipeptídica particular caracterizada por un SEQ ID NO en la lista de secuencias) y la secuencia de aminoácidos candidata de interés que se va a comparar, por ejemplo, el número de residuos de aminoácidos idénticos compatibles como se determina por medio de WU-BLAST-2, por (b) el número total de residuos de aminoácido de la secuencia polipeptídica, como describe en la presente memoria, que se somete a comparación (por ejemplo, una secuencia polipeptídica particular caracterizada por un SEQ ID NO en la lista de secuencias).

El "porcentaje (%) de identidad de secuencia de ácidos nucleicos" con respecto a una secuencia de ácidos nucleicos, como se describe en la presente memoria, se define como el porcentaje de nucleótidos en una secuencia candidata de interés que se va a comparar que es idéntica con los nucleótidos en una secuencia de ácidos nucleicos particular como se describe en la presente memoria (por ejemplo, una secuencia polipeptídica particular caracterizada por un SEQ ID NO en la lista de secuencias), después de alinear las secuencias e introducir espacios, si fuera necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia. Un alineamiento con el fin de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de ácidos nucleicos se puede llevar a cabo según procedimientos conocidos en la técnica, como se describe, por ejemplo, en el documento EP 1 241 179 B1. Por ejemplo, un experto puede utilizar un *software* informático públicamente disponible, tal como utilizando un *software* informático públicamente disponible tal como un *software* BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Un experto puede determinar los parámetros apropiados para medir el alineamiento, que incluyen cualquier algoritmo necesitado para alcanzar el alineamiento máximo sobre la longitud completa de las secuencias sometidas a comparación. Según una realización preferida, el % de valores de identidad se puede generar utilizando el programa informático WU-BLAST-2, como se describe, por ejemplo, en el documento EP 1 241 179 B1. Según una realización preferida, se utilizan los siguientes parámetros del programa informático: Los valores de identidad utilizados en la presente memoria se generan por medio del módulo BLASTN de WU-BLAST-2 establecido a los parámetros por defecto, con espacio de solapamiento y fracción de solapamiento establecidos en 1 y 0,125, respectivamente. Un % de un valor de identidad de secuencia de ácidos nucleicos se puede obtener al dividir (a) el número de nucleótidos idénticos compatibles entre una secuencia de ácidos nucleicos particular, como se describe en la presente memoria, que se somete a comparación (por ejemplo, una secuencia de ácidos nucleicos particular caracterizada por un SEQ ID NO en la lista de secuencias) y la molécula de ácido nucleico de comparación de interés que se va a comparar,

por ejemplo, el número de nucleótidos idénticos compatibles como se determina por medio de WU-BLAST-2, por (b) el número total de residuos de nucleótido de la secuencia de ácidos nucleicos particular, como describe en la presente memoria, que se somete a comparación (por ejemplo, una secuencia de ácidos nucleicos particular caracterizada por un SEQ ID NO en la lista de secuencias).

- 5 En particular, la identidad de secuencia se puede determinar sobre la longitud completa de una secuencia de aminoácidos respectiva como se describe en uno de los SEQ ID NO: 1 a 49 o sobre la longitud completa de una secuencia de nucleótidos respectiva como se describe en uno de los SEQ ID NO: 50 a 128.

10 El término "positivos", en el contexto de la comparación de secuencias realizada como se describe anteriormente y en el documento EP 1 241 179 B1, incluye los residuos en las secuencias comparadas que no son idénticos pero que tienen propiedades similares (por ejemplo, como resultado de sustituciones conservadoras). El % de valor de positivos se determina por la fracción de residuos que obtienen un valor positivo en la matriz BLOSUM 62 dividido por el número total de residuos en la región alineada.

15 Asimismo, un anticuerpo de la presente invención se une específicamente a CD26 y tiene una región variable de cadena pesada, dicha región variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 22 a 47. Una variante de una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 22 a 47 puede tener al menos un 90 %, preferiblemente, al menos un 98 %, más preferiblemente, al menos un 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 22 a 47. Alternativamente, una variante de una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 22 a 47 puede ser una secuencia de aminoácidos, en donde no más de 8, preferiblemente, no más de 5, más preferiblemente, no más de 1 residuo(s) de aminoácido, respectivamente, se ha(n) eliminado, insertado o reemplazado con un residuo de aminoácido diferente del residuo de aminoácido reemplazado. En una realización, el reemplazo de aminoácidos es un cambio conservador. En particular, un anticuerpo anti-CD26 de la presente invención puede ser un anticuerpo, en donde la región variable de cadena pesada puede comprender o consistir en una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 22 a 47. Además, un anticuerpo de la presente invención se une específicamente a CD26 y puede tener una región variable de cadena pesada, dicha región variable de cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos 7-112 del SEQ ID NO: 26. En una realización, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo quimérico que comprende regiones constantes de cadena ligera y de cadena pesada humanas.

20 Además, un anticuerpo de la presente invención puede comprender una región constante de cadena ligera, dicha región constante de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en el SEQ ID NO: 48 y variante(s) de la misma. Una variante de la secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 48 puede tener al menos un 90 %, preferiblemente, al menos un 98 %, más preferiblemente, al menos un 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID NO: 48. Alternativamente, una variante del SEQ ID NO: 48 puede ser una secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 48, en donde no más de 8, preferiblemente, no más de 5, más preferiblemente, no más de 1 residuo(s) de aminoácido, respectivamente, se ha(n) eliminado, insertado o reemplazado con un residuo de aminoácido diferente del residuo de aminoácido reemplazado. En una realización, el reemplazo de aminoácidos es un cambio conservador. En particular, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo, en donde la región constante de cadena ligera puede comprender o consistir en una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 48 o una variante de la misma.

En una realización alternativa, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo quimérico que comprende regiones constantes de cadena ligera humanas.

45 Asimismo, un anticuerpo de la presente invención puede comprender una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 49 o una variante de la misma. Una variante de la secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 49 puede tener al menos un 90 %, preferiblemente, al menos un 98 %, más preferiblemente, al menos un 99 % de identidad de secuencia con el SEQ ID NO: 49. Alternativamente, una variante del SEQ ID NO: 49 puede ser una secuencia de aminoácidos, en donde no más de 8, preferiblemente, no más de 5, más preferiblemente, no más de 1 residuo(s) de aminoácido, respectivamente, se ha(n) eliminado, insertado o reemplazado con un residuo de aminoácido diferente del residuo de aminoácido reemplazado. En una realización, el reemplazo de aminoácidos es un cambio conservador. En particular, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo, en donde la cadena CH1-CH2-CH3 puede comprender o consistir en una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 49 o una variante de la misma.

En una realización alternativa, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo quimérico que comprende una región constante de cadena pesada humana.

55 En particular, un anticuerpo de la presente invención puede ser de la clase IgG 2B y puede comprender una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 49 o una variante de la misma, como se define *supra*.

Como se puede ver en las listas de secuencias anejas, se ha identificado un grupo de secuencias para la región variable de cadena pesada (VH) y 2 grupos diferentes de secuencias se han identificado para la región variable de

cadena ligera (VL). Los alineamientos de secuencias de cada grupo, que muestran su similitud, se muestran en la Figura 3. Una secuencia de VL (SEQ ID NO: 4) presente con gran frecuencia en anticuerpos de la presente invención se ha identificado y se ha reconocido la secuencia de CL correspondiente (SEQ ID NO: 48). Una secuencia de VH presente con gran frecuencia se ha identificado (SEQ ID NO: 26) y se ha reconocido la secuencia de CH1-CH2-CH3 correspondiente (SEQ ID NO: 49).

Un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo que se une específicamente a CD26, comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 4 y comprende una región constante de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 48 o una variante de la misma. Un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo que se une específicamente a CD26, comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 26 y comprende una cadena CH1-CH2-CH3 que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 49 o una variante de la misma. Además, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo que se une específicamente a CD26, comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 4 y, opcionalmente, comprende además una región constante de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 48 o una variante de la misma y, opcionalmente, comprende además una cadena CH1-CH2-CH3 que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 49 o una variante de la misma y, opcionalmente, comprende además una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 26. En particular, un anticuerpo de la presente invención puede comprender una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 4, una región constante de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 48 o una variante de la misma, una cadena CH1-CH2-CH3 que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 49 o una variante de la misma y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 26. Alternativamente, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo quimérico que comprende una región constante de cadena ligera y/o de cadena pesada humana.

En particular, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo que se une específicamente a CD26, comprende una región variable de cadena ligera que comprende los residuos de aminoácido 8-104 del SEQ ID NO: 4, una región constante de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 48 o una variante de la misma, una cadena CH1-CH2-CH3 que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 49 o una variante de la misma y una región variable de cadena pesada que comprende los residuos de aminoácido 7-112 del SEQ ID NO: 26. Alternativamente, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo quimérico que comprende una región constante de cadena ligera y/o de cadena pesada humana.

En particular, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo que se une específicamente a CD26, comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 y comprende una región constante de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 48 o una variante de la misma y comprende una cadena CH1-CH2-CH3 que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 49 o una variante de la misma; opcionalmente, este anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47. Alternativamente, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo quimérico que comprende una región constante de cadena ligera y/o de cadena pesada humana.

En particular, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo que se une específicamente a CD26, comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 4 y comprende una región constante de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 48 o una variante de la misma y comprende una cadena CH1-CH2-CH3 que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 49 o una variante de la misma; opcionalmente, este anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47. Alternativamente, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo quimérico que comprende una región constante de cadena ligera y/o de cadena pesada humana.

En particular, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo que se une específicamente a CD26, comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 26 y comprende una región constante de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 48 o una variante de la misma y comprende una cadena CH1-CH2-CH3 que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 49 o una variante de la misma; este anticuerpo puede comprender opcionalmente además una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21. Alternativamente, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo quimérico que comprende una región constante de cadena ligera y/o de cadena pesada humana.

Una variante de una cualquiera de las secuencias seleccionadas de entre el grupo de secuencias de los SEQ ID NO: 1 a 128 puede tener al menos un 90 %, preferiblemente, al menos un 98 %, más preferiblemente, al menos un 99 % de identidad de secuencia con dicha secuencia seleccionada de entre el grupo de secuencias.

5 Asimismo, un anticuerpo de la presente invención que se une específicamente a CD26 y puede comprender una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en donde las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena pesada son aquellas de una región variable de cadena pesada de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002, y las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena ligera son aquellas de una región variable de cadena ligera de uno o de este anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. En particular, las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada pueden ser aquellas de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002, y/o las secuencias de aminoácidos de la cadena ligera pueden ser aquellas de una cadena ligera de uno o de este anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. En particular, el anticuerpo de la presente invención que se une específicamente a CD26 puede comprender las mismas secuencias de cadena pesada y las mismas secuencias de cadena ligera que un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. Alternativamente, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo quimérico que comprende una región constante de cadena ligera y/o de cadena pesada humana.

Un anticuerpo anti-CD26 de la presente invención (por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a CD26 y comprende una región variable de cadena pesada que comprende el SEQ ID NO:1 y comprende una región variable de cadena ligera que comprende el SEQ ID NO:2), puede ser un anticuerpo, en donde además las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena pesada pueden ser aquellas de una región variable de cadena pesada de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002, y las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena ligera pueden ser aquellas de una región variable de cadena ligera de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. Opcionalmente, la secuencia de aminoácidos de la CDR3 de la región variable de cadena pesada puede ser la de una región variable de cadena pesada de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. Opcionalmente, la secuencia de aminoácidos de la CDR3 de la región variable de cadena ligera puede ser la de una región variable de cadena ligera de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. Alternativamente, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo quimérico que comprende una región constante de cadena ligera y/o de cadena pesada humana.

La expresión "línea celular de hibridoma" incluye también la descendencia de la línea celular de hibridoma, tanto si la descendencia es idéntica o no en morfología o en estructura genética. Debido a que se pueden producir ciertas modificaciones, por ejemplo, debido a mutación y/o influencias ambientales, una descendencia de este tipo puede no ser idéntica a la línea celular progenitora. Preferiblemente, la descendencia celular de esta línea celular de hibridoma producirá un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo, capaz de unirse a CD26, especialmente a CD26 humana, en particular, producirá un anticuerpo de la presente invención. Asimismo, la expresión "línea celular de hibridoma" puede abarcar también mezclas de líneas celulares de hibridoma, que producen una mezcla de anticuerpos.

Según un aspecto, la presente invención proporciona una mezcla de anticuerpos. La presente invención proporciona también una composición, en particular, una composición aislada, que comprende la mezcla de anticuerpos. Esta mezcla de anticuerpos puede comprender al menos dos anticuerpos diferentes, dichos al menos dos anticuerpos diferentes se pueden unir preferiblemente a CD26, especialmente a CD26 humana. Opcionalmente, al menos un anticuerpo que no se une a CD26 puede estar presente en la mezcla de anticuerpos. Según una realización, al menos dos o todos los anticuerpos de la composición se pueden unir específicamente a CD26, especialmente a CD26 humana. En particular, uno o más o todos los anticuerpos presentes en la mezcla de anticuerpos pueden ser anticuerpos de la presente invención y, opcionalmente, pueden tener características adicionales de los anticuerpos de la presente invención como se describió *supra*. Esta mezcla de anticuerpos puede comprender un primer anticuerpo, dicho primer anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 2 y/o la secuencia de descrita en el SEQ ID NO: 3, en particular en el SEQ ID NO: 3, y un segundo anticuerpo, dicho segundo anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 2. El primer anticuerpo y/o el segundo anticuerpo pueden ser anticuerpos de la presente invención y, opcionalmente, pueden tener una o más características adicionales de los anticuerpos de la presente invención como se discutió en detalle *supra*. En una realización, la mezcla de anticuerpos comprende o consiste en anticuerpos que tienen una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 de VH del SEQ ID NO: 133, una CDR2 de VH del SEQ ID NO: 134, y una CDR3 de VH del SEQ ID NO: 1.

Según una realización preferida de la descripción, la mezcla de anticuerpos comprende al menos uno o comprende o consiste en dos anticuerpos que tienen la siguiente combinación de secuencias (cada anticuerpo comprende una de las secuencias de cadena ligera indicada a continuación con la secuencia de cadena pesada indicada a continuación):

60 Una de las siguientes dos cadenas ligeras diferentes que comprende

a) Una región variable de cadena ligera que comprende el SEQ ID NO: 4 o una variante del SEQ ID NO: 4, en particular, cualquiera del SEQ ID NO: 6 al SEQ ID NO: 21, junto con una región constante de cadena ligera que comprende el SEQ ID NO: 48; o

b) Una región variable de cadena ligera que comprende el SEQ ID NO: 5,

5 junto con una cadena pesada que comprende lo siguiente:

Una región variable de cadena pesada que comprende el SEQ ID NO: 26 o una variante del SEQ ID NO: 26, en particular, cualquier secuencia seleccionada de entre el SEQ ID NO: 22 al SEQ ID NO: 25 y entre el SEQ ID NO: 27 al SEQ ID NO: 47, junto con una región constante de cadena pesada (CH1-CH2-CH3) que comprende el SEQ ID NO: 49.

10 En una realización, la mezcla de anticuerpos comprende o consiste en los anticuerpos producidos por el depósito de hibridoma PD 12002. En una realización, la composición aislada comprende al menos uno de los anticuerpos producidos por el depósito de hibridoma PD 12002, en particular, comprende los anticuerpos producidos por el depósito de hibridoma PD 12002.

15 Durante los numerosos experimentos realizados por los autores de la presente invención, los anticuerpos producidos por el depósito de hibridoma PD 12002, sorprendentemente, mostraron tener actividades beneficiosas para su uso como medicamento, en particular, para promover el prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas y/o para prevenir y/o tratar al menos una de entre la enfermedad del injerto contra el huésped y anemia aplásica.

20 La línea celular de hibridoma PD 12002, tal como se depositó, es estable en almacenamiento y cultivo, y se ha cultivado y verificado para estabilidad e identidad durante más de 5 años.

25 En otro aspecto, la invención proporciona un agente (en particular, un anticuerpo o fragmento del mismo) que compite para unión específica a CD26, en particular, a CD26 humana, con un anticuerpo en un ensayo de unión competitiva (por ejemplo, en un ensayo de unión competitiva *in vitro*), en donde el anticuerpo es un anticuerpo de la presente invención; en particular, este agente puede competir para unión específica a CD26, en particular, a CD26 humana, con un anticuerpo que puede comprender lo siguiente

a) una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 1 y/o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 2 y/o la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 3;

30 b) una región variable de cadena pesada de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC, Génova, Italia como PD 12002 y una región variable de cadena ligera de dicho anticuerpo producido por dicha línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC, Génova, Italia como PD 12002. Según una realización, el anticuerpo puede ser un anticuerpo que puede comprender lo siguiente

35 a) una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 22 a 47 y variante(s) de las mismas y/o una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 4, 5, 6 a 21 y variante(s) de las mismas o un anticuerpo que puede comprender lo siguiente

40 b) una cadena pesada y una cadena ligera de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC, Génova, Italia como PD12002 Según una realización preferida, la invención proporciona un agente (en particular, un anticuerpo o segmento del mismo) que compite para unión específica a CD26, en particular, a CD26 humana, en un ensayo de unión competitiva (por ejemplo, en un ensayo de unión competitiva *in vitro*) con un anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada del SEQ ID NO: 26 y una región variable de cadena ligera del SEQ ID NO: 4 y/o el SEQ ID NO: 5. El ensayo de unión competitiva se puede utilizar para determinar si dos anticuerpos se unen al mismo epítipo al reconocer epítipos idénticos o de solapamiento estérico (Dong *et. al* 1998). Cualquier ensayo de unión competitiva conocido por un experto se puede utilizar para identificar

45 un agente que compite para unión específica a CD26 con un anticuerpo de la presente invención. Por ejemplo, se pueden utilizar ensayos en los que un antígeno de CD26 se inmoviliza en una placa de múltiples pocillos y se mide la capacidad de un anticuerpo no marcado. Los marcadores comunes para ensayos de competición de este tipo son marcadores radioactivos o marcadores enzimáticos.

50 Según otro aspecto, una molécula de ácido nucleico aislada que comprende (a) una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo de la presente invención o (b) una secuencia de nucleótidos complementaria a (a) es proporcionada por los autores de la presente invención.

55 En el contexto de la presente invención, la expresión "molécula de ácidos nucleicos" se utiliza como se conoce en la técnica y, en particular, se puede referir a dos o más nucleótidos o análogos de nucleótidos unidos por medio de un enlace covalente. La expresión "molécula de ácido nucleico" abarca oligonucleótidos, que comprenden generalmente no más de aproximadamente cincuenta nucleótidos, y polinucleótidos, que, fundamentalmente,

pueden tener cualquier longitud. Además, la expresión "molécula de ácido nucleico" puede abarcar ADN, tal como un ADNc o un gen, o ARN. Los nucleótidos que comprenden una molécula de ácido nucleico se pueden seleccionar, por ejemplo, de entre el grupo que consiste en desoxirribonucleótidos que existen de manera natural, ribonucleótidos o análogos de nucleótidos, tales como nucleótidos sintéticos que no existen de manera natural o nucleótidos que existen de manera natural modificados. Los análogos de nucleótidos se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en Lin *et al.*, 1994, Nucl. Acids Res. 22:5220-5234; Jellinek *et al.*, 1995, Biochem. 34:11363-11372; Pagratis *et al.*, 1997, Nature Biotechnol. 15:68-73.

Una composición o compuesto "aislado", tal como, por ejemplo, un polipéptido, anticuerpo, molécula de ácido nucleico, vector, célula o mezcla de los mismos, se puede encontrar, en particular, en un compuesto o composición que está presente en una forma que no se encuentra en la naturaleza. Los compuestos aislados (por ejemplo, polipéptidos, moléculas de ácido nucleico, anticuerpos, vectores, células) o composiciones incluyen aquellos que se han purificado hasta un punto en el que ya no se encuentran en una forma en la que se encuentran en la naturaleza.

La presente descripción proporciona también una molécula de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 50 a 128 y variante(s) de la misma. Una variante de la secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 50 a 128 puede tener al menos un 90 %, preferiblemente, al menos un 98 %, más preferiblemente, al menos un 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 50 a 128. Una secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 50 a 77 o una variante de la misma puede codificar una región variable de cadena ligera (VL) o una sección de la misma. Alternativamente, una variante de una secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 50 a 128 puede ser una secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 50 a 128, en donde no más de 12, preferiblemente, no más de 5, más preferiblemente, no más de 1 residuo(s) de nucleótidos, respectivamente, se ha(n) eliminado, insertado o reemplazado con un residuo de nucleótido diferente del residuo de nucleótido reemplazado. Una secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 78 a 126 o una variante de la misma puede codificar una región variable de cadena pesada (VH) o una sección de la misma. La secuencia de nucleótidos descrita en el SEQ ID NO: 127 o una variante de la misma puede codificar una región constante de cadena ligera (CL) o una sección de la misma. La secuencia de nucleótidos descrita en el SEQ ID NO: 128 o una variante de la misma puede codificar una cadena CH1-CH2-CH3 o una sección de la misma. Según una realización, la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena VL puede ser una secuencia reorganizada (unión sin cambio en el marco de lectura y sin codón de terminación) de IGK (locus Ig kappa) productiva. Según una realización, la secuencia de nucleótidos que codifica la cadena VH puede ser una secuencia reorganizada (unión sin cambio en el marco de lectura y sin codón de terminación) de IGH (gen de cadena pesada de Ig) productiva.

Las variantes mencionadas anteriormente de las moléculas de ácido nucleico se pueden obtener, por ejemplo, por medio de "mutagénesis parsimoniosa" (Shier, R., *et al.*, 1996, Gene 169: 147) o por medio de métodos de mutagénesis dirigida o aleatoria de secuencias de nucleótidos de la presente invención (Marks, J. D., *et al.*, 1992, *J. Biol. Chem.* 267: 16007) realizados para mejorar algunas propiedades de los anticuerpos, como, por ejemplo, la afinidad, preferiblemente, mientras mantienen la unión específica a CD26.

Las moléculas de ácido nucleico descritas en la presente memoria se pueden clonar en vectores adecuados para su amplificación, mutagénesis adicional o modificación o expresión. La presente descripción proporciona también un vector que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo de la presente invención. Preferiblemente, el vector es capaz de expresar eficazmente un anticuerpo según la presente invención. En particular, un vector de ácido nucleico comprende una primera molécula de ácido nucleico unida covalente y operativamente a una segunda molécula de ácido nucleico de modo que un huésped que contiene el vector expresa el polipéptido codificado por la primera molécula de ácido nucleico, la primera molécula de ácido nucleico es una molécula de ácido nucleico según la presente descripción, en particular, una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 50 a 128 y variante(s) de la misma. Estos vectores se pueden utilizar para la preparación de anticuerpos recombinantes o proteínas quiméricas en un huésped adecuado y siguiendo los métodos conocidos en la técnica.

Según una realización actualmente preferida de la presente invención, los anticuerpos recombinantes, preferiblemente, se clonan y se expresan en células huésped procariontas o eucariotas: es particularmente preferida la *E. coli*, pero también se pueden utilizar otras células procariontas, tales como *B. subtilis*, *P. pastoris*, *K. lactis*, o células eucariotas de origen vegetal o animal, en particular, de origen murino.

Según todavía otro aspecto, se proporciona un vector de expresión que comprende una molécula de ácido nucleico de la presente descripción, en donde dicha molécula de ácido nucleico se une operativamente a una secuencia de control de expresión.

En particular, el término "vector" se puede referir a, por ejemplo, una molécula de ácido nucleico, plásmido o virus, utilizado para transferir información de codificación a una célula huésped. En particular, un "vector" puede ser una molécula de ácido nucleico, preferiblemente, autorreplicante, que puede transferir una molécula de ácido nucleico insertada en y/o entre células huésped. Los ejemplos de vectores incluyen, pero no se limitan a, vector vírico, en

donde segmento(s) de ADN adicional(es) se puede(n) enlazar al genoma vírico, vectores de expresión de ADN o ARN no marcados, vectores de expresión de ADN o ARN encapsulados en liposomas, plásmido, tal como, por ejemplo, un bucle de ADN de doble cadena circular en el que se puede(n) ligar segmento(s) de ADN adicional(es), vector cósmido o de fago, un vector, que es capaz de replicación autónoma en una célula huésped en la que se ha introducido el vector, y vectores de expresión de ADN o ARN asociados con agentes de condensación catiónicos. En particular, un vector se puede integrar en el genoma de una célula huésped tras la introducción en la célula huésped, lo que permite que se replique subsecuentemente junto con el genoma del huésped. En particular, el término "vector" abarca vectores de expresión. Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "vector de expresión" se puede referir, en particular, a un vector que es capaz de dirigir la expresión de uno o más genes al (a los) que el vector de expresión se une operativamente. Los vectores de expresión que contienen secuencias de nucleótidos, como se describen en la presente memoria, se pueden optimizar para expresión en una célula huésped, en particular, por medio de inserción de regiones reguladoras adecuadas, promotores, terminadores transcripcionales o activadores u origen de replicación.

En el contexto de la presente solicitud, los componentes que "se unen operativamente" pueden ser, en particular, componentes que se encuentran en una relación que permite a los componentes funcionar de la manera prevista. En particular, una secuencia de control de expresión unida operativamente a una secuencia codificante se puede ligar de modo que la expresión de la secuencia codificante se consigue en condiciones compatibles con una o más secuencias de control de expresión. La expresión "secuencia de control de expresión" abarca, pero no se limita a, una o más secuencia(s) de nucleótidos que regula(n) la expresión de una secuencia de nucleótidos a la que se une operativamente la secuencia de control de expresión. Las secuencias de control de expresión unidas operativamente pueden incluir, pero no se limitan a, secuencias de control de expresión que son contiguas al gen de interés y secuencias de control de expresión que actúan en *trans* o a una distancia para controlar un gen de interés.

Según una realización, una secuencia de control de expresión unida operativamente a una secuencia de ácidos nucleicos puede controlar y regular la transcripción y, cuando sea apropiado, la traducción de la secuencia de ácidos nucleicos. Las secuencias de control de expresión pueden incluir, pero no se limitan a, una o más secuencias seleccionadas de entre el grupo que consiste en secuencias promotoras, secuencias potenciadoras, terminadores de transcripción, señal de empalme para intrón (intrones), si hay intrón (intrones) presente(s), codones de inicio, en particular, enfrente de un gen codificante de proteínas, secuencias que aseguran la traducción correcta de ARNm y codones de terminación. Según una realización, un vector de expresión puede contener, por ejemplo, un origen de replicación, un promotor y, opcionalmente uno o más genes que permiten la selección fenotípica de células transformadas.

Según todavía otro aspecto, la presente descripción proporciona una célula huésped recombinante que comprende una molécula de ácido nucleico de la presente descripción.

En el contexto de la presente solicitud, la expresión "célula huésped" se puede referir, en particular, a una célula que se ha transformado, o que es capaz de transformarse, con una secuencia de ácidos nucleicos. Después de haberse transformado, una célula huésped puede expresar un gen de interés seleccionado. La expresión "célula huésped" no solo abarca la célula obtenida después de transformación, sino que también incluye la descendencia de la célula obtenida después de la transformación, tanto si la descendencia es idéntica o no en morfología o en estructura genética a la célula progenitora original. Debido a que se pueden producir ciertas modificaciones, por ejemplo, debido a mutación y/o influencias ambientales, una descendencia de este tipo puede no ser idéntica a la célula progenitora. Preferiblemente, la descendencia produce un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo, que es capaz de unirse a CD26, especialmente a CD26 humana. La expresión "célula huésped" puede abarcar también mezclas de células huésped. En mezclas de células huésped, las células huésped pueden producir un anticuerpo o un fragmento del mismo o dos o más anticuerpos diferentes o fragmentos de los mismos.

Un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo producido a partir de la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002 o un derivado de dicha línea celular de hibridoma. En particular, un derivado de la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002 es una línea celular que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia, que es una variante de uno o más de los SEQ ID NO: 50 a 128. Un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo que se une al epítipo unido por medio de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada en CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "epítipo" se puede referir, en particular, a una porción de un antígeno capaz de ser reconocida y de unirse específicamente a un anticuerpo particular. Normalmente, un epítipo puede incluir al menos 3, y más normalmente, al menos 4 o entre 8 y 10 aminoácidos en una conformación espacial particular. Ya que un anticuerpo puede reconocer un péptido o un polipéptido antigénico en su forma terciaria, los aminoácidos que comprenden un epítipo necesitan ser no contiguos y, en algunos casos, incluso pueden no estar en la misma cadena peptídica. En la presente invención, un epítipo peptídico o polipeptídico reconocido por anticuerpos de la presente invención contiene una secuencia de al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25 o entre aproximadamente 5 a aproximadamente 30, entre aproximadamente 10 a aproximadamente 30 o entre aproximadamente 15 a aproximadamente 35 aminoácidos contiguos y no contiguos de CD26.

En una realización, un anticuerpo monoclonal anti-CD26 de la presente invención es capaz de unirse a un epítipo de CD26 que comprende una o más secuencias de aminoácidos seleccionadas de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 146-159. En realizaciones específicas, el epítipo puede ser un epítipo continuo o un epítipo discontinuo. En una realización, un anticuerpo monoclonal anti-CD26 de la presente invención es capaz de unirse a un epítipo de CD26 que comprende una o más secuencias de aminoácidos seleccionadas de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 146-148, 152, 154, 158 y 159. En una realización, un anticuerpo monoclonal anti-CD26 de la presente invención es capaz de unirse a un epítipo de CD26 que comprende una o más secuencias de aminoácidos seleccionadas de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 146-148, 152, 154, 158 y 159. En otra realización, un anticuerpo monoclonal anti-CD26 de la presente invención es capaz de unirse a un epítipo de CD26 que comprende el SEQ ID NO: 146. En otra realización, un anticuerpo monoclonal anti-CD26 de la presente invención es capaz de unirse a un epítipo de CD26 que comprende el SEQ ID NO: 146 y una o más secuencias de aminoácidos seleccionadas de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 147, 148, 152, 154 y 159. En una realización particular, un anticuerpo monoclonal anti-CD26 de la presente invención es capaz de unirse a un epítipo de CD26 que comprende los SEQ ID NO: 146, 147 y 148; o los SEQ ID NO 146, 147 y 152; o los SEQ ID NO 146 y 147; o los SEQ ID NO 146 y 152.

Según todavía otro aspecto, los autores de la presente invención proporcionan un anticuerpo producido a partir de la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002 o un derivado de dicha línea celular de hibridoma.

Según otro aspecto, se proporciona un anticuerpo que se une al epítipo unido por medio de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada en CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002.

Según todavía otro aspecto, se proporciona un proceso para fabricar un anticuerpo de la presente invención. Este proceso comprende las etapas siguientes:

(I) proporcionar una célula huésped de la presente invención, en particular, la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002;

(II) cultivar la célula huésped de la presente invención en un medio de cultivo; y

(III) obtener el anticuerpo del medio;

(IV) opcionalmente, purificar el anticuerpo, por ejemplo, por medio de filtración y/o nanofiltración.

Según una realización, los animales transgénicos que se han diseñado genéticamente para producir anticuerpos, en particular, anticuerpos humanos, se pueden utilizar para generar un anticuerpo contra una diana inmunogénica como se menciona en la presente solicitud, en particular, un anticuerpo para CD26. Los animales transgénicos y los anticuerpos producidos por estos animales transgénicos son obtenibles utilizando técnicas conocidas en la técnica, en particular, utilizando protocolos de inmunización estándar, como se describe, por ejemplo, en el documento US 2010/0196266 A1. Los métodos para obtener anticuerpos humanos a partir de animales transgénicos, en particular, ratones transgénicos, se describen, por ejemplo, en Green *et al.*, Nature Genet. 7:13 (1994), Lonberg *et al.*, Nature 368:856 (1994) y Taylor *et al.*, Int. Immun. 6:579 (1994). Un ejemplo no limitativo de un animal transgénico que produce anticuerpos, en particular, anticuerpos humanos, es un ratón transgénico, en particular, el XenoMouse<sup>®</sup> de Abgenix (Fremont, Calif., EE. UU.), como se describe, por ejemplo, en Green *et al.*, 1999, J. Immunol. Methods 231:11-23). En un animal transgénico, tal como el XenoMouse<sup>®</sup>, los genes del anticuerpo de un mamífero no humano sometido a ingeniería genética, por ejemplo, los genes de anticuerpo de ratón, se han desactivado y reemplazado con genes de anticuerpo humano funcionales, mientras que el resto del sistema inmunitario del mamífero no humano sometido a ingeniería genética, por ejemplo, el sistema inmunitario de ratón, permanece intacto.

Los anticuerpos humanos producidos por animales transgénicos pueden mostrar potencial terapéutico, mientras conservan las propiedades farmacocinéticas de anticuerpos humanos normales (Green *et al.*, 1999, *supra*, documento US 2010/0196266 A1). El uso del sistema XenoMouse<sup>®</sup> se ha mencionado solamente a modo ejemplar en la presente solicitud para producir anticuerpos. De acuerdo con el conocimiento general de la técnica, un experto puede utilizar también otro animal transgénico, en particular, por ejemplo, roedores transgénicos, ovejas, cabras o vacas, para producir anticuerpos de la presente invención, en particular, anticuerpos humanos.

A menos que se indique explícitamente lo contrario, todas las técnicas mencionadas anteriormente son técnicas de ejemplo y se puede utilizar cualquier método conocido para producir anticuerpos o fragmentos de anticuerpo. Para llevar a cabo la presente invención, a menos que se indique lo contrario, se pueden emplear técnicas convencionales de biología celular, química orgánica, bioquímica, biología molecular, cultivo celular, microbiología, química de las proteínas, ADN recombinante e inmunología. Las técnicas convencionales de este tipo se describen, por ejemplo, en: Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª edición (Sambrook *et al.*, Eds.), 1989; Oligonucleotide Synthesis, (M. J. Gait, Ed.), 1984; documento US 4.683.195 (Mullis *et al.*); Nucleic Acid Hybridization, (B. D. Hames *et al.*), 1984; Methods in Enzymology, volúmenes 154 y 155 (Wu *et al.*), Academic Press, Nueva York; Transcription and Translation, (B. D. Hames y S. J. Higgins), 1984; Culture of Animal Cells (R. I. Freshney, ed.), 1987; Immobilized Cells and Enzymes, IRL Press, 1986; A Practical Guide to Molecular Cloning (B. Perbal), 1984; Gene Transfer

Vectors for Mammalian Cells (J. H. Miller y M. P. Calos, Eds.), 1987; Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology (Mayer y Walker, eds.), 1987; Handbook of Experiment Immunology, volúmenes I-IV (D. M. Weir y C. C. Blackwell, eds.), 1986; Manipulating the Mouse Embryo, 1986.

5 A menos que se requiera lo contrario por el contexto, los términos en singular incluirán los plurales y los términos en plural incluirán los singulares.

Según otro aspecto, los anticuerpos de la presente invención son anticuerpos para su uso como medicamento. En particular, los anticuerpos de la presente invención son anticuerpos para su uso en la prevención y/o tratamiento de la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), preferiblemente, después de trasplante de células madre hematopoyéticas. Además, los anticuerpos de la presente invención son anticuerpos para su uso en la prevención y/o tratamiento de la anemia aplásica, preferiblemente, anemia aplásica grave. Asimismo, un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo para su uso en la promoción del prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas. Un anticuerpo de la presente invención puede ser también un anticuerpo que es para uso en la prevención y/o tratamiento de la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), preferiblemente, después de trasplante de células madre hematopoyéticas, y para uso en la prevención y/o tratamiento de la anemia aplásica, preferiblemente, anemia aplásica grave, y para uso en la promoción del prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas.

La enfermedad del injerto contra el huésped, anemia aplásica y el estado de un sujeto antes y/o durante y/o después de trasplante de células madre hematopoyéticas se considera que es (son) enfermedad(es), trastorno(s) o afección (afecciones) mediado(s) por CD26, es decir, enfermedad(es), trastorno(s) o afección (afecciones) que se puede(n) tratar y/o prevenir al administrar un(os) agente(s), en particular, uno o más anticuerpos que se pueden unir específicamente a CD26, especialmente a CD26 humana.

Asimismo, la presente descripción proporciona también un anticuerpo, en particular, una composición, especialmente una composición aislada, que comprende un anticuerpo de la presente invención, para uso como medicamento. En particular, el anticuerpo, especialmente la composición aislada que comprende un anticuerpo de la invención, puede ser para su uso en la promoción del prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas, y/o para su uso en la prevención y/o tratamiento de la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), preferiblemente, después de trasplante de células madre hematopoyéticas, y/o para su uso en la prevención y/o tratamiento de la anemia aplásica, preferiblemente, anemia aplásica grave. Una mezcla de anticuerpos puede comprender un primer anticuerpo de la presente invención, dicho primer anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 2, y un segundo anticuerpo de la presente invención, dicho segundo anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 2. En una realización, la mezcla de anticuerpos comprende o consiste en los anticuerpos producidos por el depósito de hibridoma PD 12002. Además, la mezcla de anticuerpos puede comprender un anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo humano o humanizado) de la presente invención que comprende todas las 6 secuencias de CDR de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002.

La anemia aplásica adquirida (AA) es un estado de insuficiencia medular raro caracterizado por hipocelularidad de la médula ósea y bajos hemogramas de sangre periférica [Young N.S. *et al.*, 1997 N Eng J Med 336:1365-1372]. Similar a otras enfermedades autoinmunitarias, las células T específicas de antígeno se podrían extender desde la médula ósea de pacientes con AA y es probable que medien la citotoxicidad específica de órgano a células madre hematopoyéticas y células progenitoras [Nakao S. *et al.*, Blood 1997, 89:3691-3699].

Los genes expresados diferencialmente, que se encontraron exclusivamente en células T infiltrantes de MO, se clasificaron en varias categorías funcionales. Estos genes expresados diferencialmente incluían moléculas implicadas en las respuestas inmunitarias como PF-4, CD26, Ncf-1, CCR2 y otros receptores y ligandos de quimiocina. Asimismo, se ha supuesto que la AA se origina a partir de la destrucción autoagresora de células madre hematopoyéticas y progenitoras mediada por células T que reconocen los antígenos diana inductores [Young N.S. *et al.*, 1997, *supra*]. Varios grupos han identificado la expansión de células T clonales [Zeng W. *et al.*, Blood 1999, 93(9):3008-3016; Zeng W. *et al.*, J Clin Invest 2001, 108(5):765-773; Risitano A.M. *et al.*, Blood 2002, 100(1): 178-183], producción de citocina proinflamatoria [Maciejewski J.P. *et al.*, Blood 1995, 85:3183-3190] y citotoxicidad mediada por células T a células madre CD34<sup>+</sup> [Nakao S. *et al.*, 1997, *supra*; Maciejewski J.P., Selleri C., Sato T. *et al.*, Br J Haematol 1995, 91:245-252] lo que apoya una respuesta de las células T impulsada por el antígeno. La regulación de 483 genes demuestra también que la insuficiencia medular se origina a partir de un programa genético bastante complejo que implica quimiocinas, citocinas, factores de crecimiento y sus receptores. Franzke y colaboradores identifican la inducción de varias moléculas que desempeñan papeles clave en la regulación de las respuestas inmunitarias de Th1 [Anke Franzke *et al.*, BMC Genomics 2006, 7:263], tales como CCR2 y CX3CR1 [Charo I.F. *et al.*, Microcirculation 2003, 10(3-4):259-264; Fraticelli P. *et al.*, J Clin Invest 2001, 107(9):1173-1181], que son también importantes en otras enfermedades autoinmunitarias tales como esclerosis múltiple [Lock C. *et al.*, Nat Med 2002, 8(5):500-508; Jee Y. *et al.*, J Neuroimmunol 2002, 128(1-2):49-57], y CD26, una ectopeptidasa unida a la superficie expresada a altos niveles en células T diferenciadas Th1 [Dang N.H. *et al.*, Histol Histopathol 2002, 17(4):1213-1226; Willheim M. *et al.*, J Allergy Clin Immunol 1997, 100:348-255].

Aunque sin deseo de limitarse a ninguna teoría, en la actualidad, se asume que un anticuerpo de la presente invención capaz de unirse a CD26, en particular, capaz de unirse específicamente a CD26, especialmente a CD26 humana, podría desempeñar un papel clave en la inmunopatogénesis de AA y en la recuperación de hematopoyesis después de inmunosupresión.

- 5 Por lo tanto, un anticuerpo monoclonal contra CD26 se puede utilizar para tratar la anemia aplásica (en particular, anemia aplásica congénita o adquirida), especialmente anemia aplásica grave.

Los términos "tratamiento" y "prevención", tal como se utilizan en la presente solicitud, se pueden referir, en particular, a cualquier tipo de tratamiento o prevención que imparte un beneficio a un sujeto afectado por una enfermedad, trastorno o afección o en riesgo de desarrollar una enfermedad, trastorno o afección, en particular, al menos una de entre la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) y anemia aplásica. Asimismo, los términos "tratamiento" y "prevención" se pueden referir también a cualquier tipo de tratamiento o prevención que imparte un beneficio a una persona con respecto al prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas. El beneficio impartido por el tratamiento o la prevención puede ser el beneficio de proporcionar una mejora en el estado del sujeto (por ejemplo, en uno o más síntomas), el beneficio de proporcionar un retraso en la evolución de la enfermedad, trastorno o afección que se va a tratar y/o prevenir, el beneficio de retrasar la aparición de uno o más síntomas, el beneficio de aliviar la enfermedad, trastorno o afección que se va a tratar y/o prevenir, y/o el beneficio de proporcionar una evolución más lenta de los síntomas, etc. Asimismo, los términos "tratamiento" y "prevención", tal como se utilizan en la presente solicitud, no pretenden necesariamente implicar la cura o la completa supresión de los síntomas.

- 20 El término "enfermedad del injerto contra el huésped" abarca la enfermedad del injerto contra el huésped aguda y/o crónica, en particular, la enfermedad del injerto contra el huésped después de trasplante de células madre hematopoyéticas. El término "anemia aplásica" abarca tanto la anemia aplásica adquirida como la congénita, al igual que la anemia aplásica grave.

El uso de un anticuerpo de la presente invención puede proporcionar tratamiento y/o prevención para sujetos humanos, en particular, para fines médicos, y para sujetos animales, en particular, para fines de cribado veterinario y farmacológico y de desarrollo. Los sujetos animales adecuados incluyen mamíferos, tales como, por ejemplo, conejos, primates, bovinos, etc. Los sujetos humanos son los más preferidos. Los sujetos humanos incluyen sujetos neonatos, infantes, juveniles y adultos. Los términos "paciente" y "sujeto" se utilizan indistintamente en la presente memoria. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "paciente" se puede referir a los seres humanos, pero no se restringe a los seres humanos.

Según otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo de la presente invención (por ejemplo, un anticuerpo, o dos o más, o tres o más anticuerpos de la presente invención) o una mezcla de anticuerpos que comprende al menos un anticuerpo de la presente invención o una composición aislada que comprende al menos un anticuerpo de la presente invención y, opcionalmente, al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. En una realización, una composición farmacéutica puede comprender un anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo humano o humanizado) que comprende todas las 6 secuencias de CDR de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. En otra realización, una composición farmacéutica puede comprender un anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo quimérico) que comprende las regiones VH y VL de un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002. En otra realización, una composición farmacéutica puede comprender una mezcla de anticuerpos que comprende un primer anticuerpo de la presente invención, dicho primer anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 2 y/o la secuencia de descrita en el SEQ ID NO: 3, en particular, la secuencia de descrita en el SEQ ID NO: 3, y un segundo anticuerpo de la presente invención, dicho segundo anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 2. El primer y el segundo anticuerpo pueden ser anticuerpos diferentes, en particular, el segundo anticuerpo puede tener una secuencia de aminoácidos, en donde al menos un residuo de aminoácido se ha eliminado, insertado o reemplazado con un residuo de aminoácido diferente, cuando se compara con la secuencia de aminoácidos del primer anticuerpo. La composición farmacéutica puede comprender el al menos un anticuerpo de la presente invención, por ejemplo, un anticuerpo de la presente invención o una mezcla de anticuerpos, o una composición aislada de la presente invención, como ingrediente eficaz. En particular, la composición farmacéutica puede comprender el al menos un anticuerpo de la presente invención en una cantidad eficaz para tratar y/o prevenir al menos una de entre la enfermedad del injerto contra el huésped, preferiblemente, después de trasplante de células madre hematopoyéticas, y anemia aplásica, preferiblemente, anemia aplásica grave. Asimismo, la composición farmacéutica puede comprender el al menos un anticuerpo de la presente invención en una cantidad eficaz para promover el prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas.

La composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo de la presente invención es una composición farmacéutica para su uso como medicamento. En particular, una composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo de la presente invención es una composición farmacéutica para su uso en la promoción del prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas, y/o para su uso en la prevención y/o tratamiento de la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), preferiblemente, después de trasplante de

células madre hematopoyéticas, y/o para su uso en la prevención y/o tratamiento de anemia aplásica, preferiblemente, anemia aplásica grave.

La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender opcionalmente uno o más excipientes, preferiblemente, excipientes farmacéuticamente aceptables, en particular, uno o más diluyentes, preferiblemente, diluyentes farmacéuticamente aceptables. Un(os) excipiente(s) apropiado(s), en particular, excipiente(s) farmacéuticamente aceptable(s), se puede(n) elegir por un experto de acuerdo con el conocimiento general de la técnica y de acuerdo con las enseñanzas proporcionadas en la presente solicitud. El diluyente puede ser, por ejemplo, un disolvente farmacéuticamente aceptable o una mezcla de disolventes farmacéuticamente aceptables, tales como, por ejemplo, agua. Los excipientes adecuados, en particular, diluyentes, se conocen en la técnica y se pueden seleccionar, por ejemplo, de entre el grupo que comprende líquidos que comprenden un sistema amortiguador farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, disoluciones salinas tamponadas con fosfato, agua, disolución salina, en particular, disolución salina fisiológica, emulsiones, tales como emulsiones de aceite/agua, uno o más agentes humectantes, disoluciones estériles, etc. Una composición farmacéutica puede contener también uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

Según una realización, una composición farmacéutica de la presente invención puede comprender al menos un anticuerpo de la presente invención, tal como al menos un anticuerpo anti-CD26, por ejemplo, monoclonal o, por ejemplo, murino o, por ejemplo, monoclonal y murino según la presente invención, y agua y un tampón fosfato, preferiblemente, un tampón que comprende  $M'H_2PO_4$  y  $M''M'''HPO_4$ , en donde M', M'' y M''' se pueden seleccionar indistintamente de entre el grupo que consiste en Na y K. Esta composición farmacéutica puede comprender opcionalmente uno o más de entre NaCl, KCl y mezclas que comprenden NaCl y KCl. El al menos un anticuerpo de la presente invención puede comprender o consistir en los anticuerpos producidos por el depósito de hibridoma PD 12002 o al menos un anticuerpo del mismo. La composición farmacéutica de la presente invención puede ser para administración intravenosa, en particular, inyección intravenosa o infusión intravenosa. En una realización particular, una composición farmacéutica de la presente invención puede comprender o consistir en los anticuerpos producidos por el depósito de hibridoma PD 12002 y DPBS.

Según una realización, una composición farmacéutica de la presente invención puede comprender al menos un anticuerpo de la presente invención, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-CD26 según la presente invención, en particular, producido por el depósito de hibridoma PD 12002. En una realización, la composición farmacéutica puede comprender al menos un anticuerpo de la presente invención, por ejemplo, producido por el depósito de hibridoma PD 12002, uno o más corticosteroides, uno o más antihistamínicos y disolución salina, por ejemplo, disolución salina fisiológica (especialmente, disolución salina que contiene NaCl aproximadamente al 0,9% p/v). En particular, estas composiciones farmacéuticas acuosas se pueden administrar por infusión, especialmente difusión lenta, en particular, por administración intravenosa.

En una realización, la composición farmacéutica de la invención comprende un anticuerpo de la invención en un intervalo de concentración entre 1 mg/ml a 10 mg/ml, entre 1 mg/ml a 50 mg/ml, entre 1 mg/ml a 100 mg/ml, entre 10 mg/ml a 100 mg/ml o entre 50 mg/ml a 100 mg/ml. En una realización particular, una composición farmacéutica de la invención puede comprender al menos aproximadamente 1 mg/ml, al menos aproximadamente 1 mg/ml, al menos aproximadamente 5 mg/ml, al menos aproximadamente 10 mg/ml, al menos aproximadamente 20 mg/ml, al menos aproximadamente 30 mg/ml, al menos aproximadamente 40 mg/ml, al menos aproximadamente 50 mg/ml o al menos aproximadamente 100 mg/ml de un anticuerpo de la invención.

En una realización, las composiciones farmacéuticas pueden comprender al menos un anticuerpo de la presente invención en una cantidad entre 1 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día y 4,5 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día para su uso en el tratamiento y/o prevención de la enfermedad del injerto contra el huésped o puede comprender al menos un anticuerpo de la presente invención en una cantidad entre 1 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día y 2 mg de anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día para su uso en el tratamiento y/o prevención de la anemia aplásica. Asimismo, según una realización, las composiciones farmacéuticas pueden comprender intervalos actualmente preferidos de cantidades y cantidades de al menos un anticuerpo de la presente invención tal como se discute en la presente memoria.

La expresión "farmacéuticamente aceptable", tal como se utiliza en la presente memoria, en particular, indica que el compuesto "farmacéuticamente aceptable" o composición "farmacéuticamente aceptable" es adecuado para la administración a un sujeto para lograr un tratamiento y/o prevención de una enfermedad, trastorno o afección, en particular, de al menos una entre enfermedad del injerto contra el huésped y anemia aplásica o para lograr promover el prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas, sin efectos secundarios excesivamente perjudiciales a la luz de la gravedad de la enfermedad y necesidad del tratamiento.

La expresión "cantidad eficaz", tal como se utiliza en la presente memoria, en particular, indica una cantidad del al menos un anticuerpo de la presente invención, por ejemplo, de un anticuerpo o de una mezcla de anticuerpos, suficiente para producir un efecto deseable en un paciente afectado por una enfermedad, trastorno o afección, en particular, al menos una entre la enfermedad del injerto contra el huésped y anemia aplásica, o para producir un efecto deseable en un paciente con respecto a un prendimiento del injerto después de trasplante de células madre

hematopoyéticas, que incluye mejorar el estado del paciente (por ejemplo, uno o más síntomas), retrasar la evolución de la enfermedad, etc. Una cantidad eficaz de un anticuerpo descrito en la presente memoria puede ser, en particular, una cantidad suficiente para atenuar, revertir, estabilizar, ralentizar y/o retrasar la evolución de la enfermedad del injerto contra el huésped y/o anemia aplásica.

- 5 Tal como se conoce en la técnica, una cantidad eficaz de, por ejemplo, un anticuerpo según la presente invención puede variar, dependiendo de, entre otros, el historial del paciente, administración con fines de prevención o tratamiento, indicación objetivo (enfermedad del injerto contra el huésped, anemia aplásica, etc.), al igual que otros factores, tales como el tipo (y/o dosificación) de anticuerpo.

10 Una composición farmacéutica de la presente invención puede estar en forma sólida o líquida y puede estar, entre otros, en forma de uno o más polvos, uno o más comprimidos, uno o más líquidos, en particular, una o más disoluciones o uno o más aerosoles. Una composición farmacéutica de la invención puede comprender también uno o más agentes biológicamente activos adicionales, tales como, por ejemplo, agente(s) activo(s) para su uso en el tratamiento y/o prevención de al menos una de entre la enfermedad del injerto contra el huésped y anemia aplásica o agente(s) activo(s) para promover el prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas. La administración de una composición farmacéutica de la presente invención puede ser, por ejemplo, una administración seleccionada de entre el grupo que consiste en administración intraperitoneal, intravenosa, parenteral, intrarrenal, subcutánea, tópica, intrabronquial, intrapulmonar e intranasal y, si se desea, para tratamiento local, administración intralesional. Una administración parenteral puede ser, por ejemplo, una administración intraperitoneal, intradérmica, intramuscular, subcutánea, intravenosa o intraarterial. Las composiciones de la invención se pueden administrar también directamente en el sitio diana, por ejemplo, por medio de entrega biolística en el sitio diana, como a un órgano específico afectado por una enfermedad, trastorno o afección, en particular, enfermedad del injerto contra el huésped.

25 En particular, dicha administración se puede llevar a cabo por medio de inyección y/o infusión y/o entrega, tal como, por ejemplo, inyección o infusión intravenosa o intraperitoneal. La composición farmacéutica puede estar presente en forma de una forma de dosificación inyectable o una forma de dosificación para administración por infusión, en particular, en forma de una forma de dosificación inyectable para inyección intravenosa o intraperitoneal o una forma de dosificación de infusión para administración intravenosa o intraperitoneal.

30 Una composición farmacéutica, en particular, una composición farmacéutica en forma de una forma de dosificación inyectable, puede comprender uno o más disolventes farmacéuticamente aceptables, tales como, por ejemplo, agua, y/o puede estar en forma de líquido, por ejemplo, en forma de suspensión, emulsión o disolución.

35 Una composición farmacéutica según la presente invención puede comprender también conservantes y otros aditivos, tales como, por ejemplo, conservantes y otros aditivos seleccionados de entre el grupo que consiste en antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes, agente(s) activo(s) para su uso en el tratamiento y/o la prevención de al menos una de entre la enfermedad del injerto contra el huésped y anemia aplásica o agente(s) activo(s) para promover el prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas y gases inertes y similares, y/o vehículos proteicos, tales como, por ejemplo, seroalbúmina o inmunoglobulina, en particular, de origen humano.

40 Una composición farmacéutica según la presente invención se puede administrar al sujeto en una dosis adecuada. El régimen de dosificación se puede determinar, por ejemplo, por un médico especialista. Tal como se conoce en la técnica, las dosificaciones de un paciente pueden depender de muchos factores, tales como la talla del paciente, la superficie corporal, edad, peso, administración para fines de prevención o tratamiento, indicación objetivo (enfermedad del injerto contra el huésped, anemia aplásica, etc.), el compuesto particular que se va a administrar, salud general y otros fármacos que se administran simultáneamente. Según una realización, al menos un anticuerpo de la presente invención (por ejemplo, uno o dos o tres o más anticuerpos de la presente invención), en particular, para su uso en el tratamiento y/o prevención de la enfermedad del injerto contra el huésped, se pueden administrar a un paciente en una cantidad entre 1 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día y 4,5 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día, en particular, en una cantidad entre 2 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día y 4,5 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día. En particular, una cantidad de aproximadamente 2 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día o una cantidad de aproximadamente 3 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día o una cantidad de aproximadamente 4,5 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día se puede administrar a un paciente. El al menos un anticuerpo de la presente invención puede estar presente en las cantidades mencionadas anteriormente en una composición farmacéutica. Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "al menos un anticuerpo" abarca un anticuerpo o dos o más (por ejemplo, tres o más) anticuerpos.

55 Según una realización, una composición farmacéutica de la presente invención puede ser una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo producido por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002 y, opcionalmente, al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La composición farmacéutica puede comprender —según una realización— los anticuerpos producidos por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002, en particular, para su uso en el tratamiento y/o prevención de la enfermedad del injerto contra el huésped para administrarla a un paciente en una cantidad entre 1 mg de dichos anticuerpos (producidos por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002)/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día y 4,5 mg de dichos anticuerpos (producidos por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002)/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día, en particular, en una cantidad entre 2 mg de dichos anticuerpos (producidos por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002)/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día y 4,5 mg de dichos anticuerpos (producidos por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002)/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día. Según una realización, una cantidad de aproximadamente 2 mg de dichos anticuerpos/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día o una cantidad de aproximadamente 3 mg de dichos anticuerpos/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día o una cantidad de aproximadamente 4,5 mg de dichos anticuerpos/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día se puede administrar a un paciente. Las cantidades de: 2, 3 o 4,5 mg de anticuerpos producidos por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día se utilizan de manera exitosa en un ámbito clínico. Según otra realización, una composición farmacéutica para administrarla a pacientes comprende el anticuerpo en una cantidad entre 0,1 y 10 mg/m<sup>2</sup> de masa corporal por día.

Según otra realización, la administración de composiciones farmacéuticas de la presente invención es administración intravenosa, por ejemplo, infusión intravenosa o inyección intravenosa. Opcionalmente de manera adicional, al menos un fármaco inmunosupresor, por ejemplo, al menos un fármaco inmunosupresor seleccionado de entre el grupo que consiste en corticosteroides y ciclosporina (en particular, Ciclosporina A) se puede administrar al paciente, junto con el anticuerpo o de manera separada.

La superficie corporal (SC) se puede calcular según cualquier método conocido. Por ejemplo, la superficie corporal (SC) de un paciente se puede calcular según la fórmula de Mosteller de  $SC (m^2) = ([\text{altura (cm)} \times \text{peso (kg)}] / 3600)^{1/2}$  (Mosteller R D., N Engl J Med 1987 Octubre 22; 317(17):1098, que se incorpora a la presente memoria a modo de referencia) o según la fórmula de Dubois y Dubois de  $SC (m^2) = 0,20247 \times \text{altura (m)}^{0,725} \times \text{peso (kg)}^{0,425}$  (DuBois D; DuBois E F., Arch Int Med 1916 17:863-71, que se incorpora en la presente memoria a modo de referencia). Según una realización preferida, la fórmula de Mosteller se utiliza para calcular la superficie corporal (SC) de un paciente.

Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de anemia aplásica puede comprender al menos un anticuerpo de la presente invención y, opcionalmente, al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Dicho al menos un anticuerpo (por ejemplo, uno o dos o más anticuerpos) de la presente invención se pueden administrar a un paciente en una cantidad entre 1 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día y 2 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día, en particular, en una cantidad de aproximadamente 2 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día para su uso en el tratamiento de anemia aplásica. El al menos un anticuerpo de la presente invención puede estar presente en una composición farmacéutica en las cantidades o intervalos de cantidades mencionados anteriormente. En particular, las composiciones farmacéuticas se pueden administrar por medio de administración intravenosa, por ejemplo, infusión o inyección. Opcionalmente, de manera adicional, al menos un fármaco inmunosupresor, en particular, ciclosporina A, se puede administrar a un paciente, junto con al menos un anticuerpo, o de manera separada. Según otra realización, la composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de anemia aplásica puede comprender un anticuerpo producido por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002 y, opcionalmente, al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Según otra realización, un anticuerpo producido por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002 se puede administrar para su uso en el tratamiento de anemia aplásica a un paciente en una cantidad entre 1 mg de dicho anticuerpo (producido por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002)/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día y 2 mg de dicho anticuerpo (producido por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002)/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día, en particular, en una cantidad de aproximadamente 2 mg de dicho anticuerpo (producido por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002)/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día.

Asimismo, las dosis de un anticuerpo de la presente invención por debajo o por encima de los intervalos de ejemplo indicados anteriormente se pueden administrar, por ejemplo, para tratar y/o prevenir al menos una de entre la enfermedad del injerto contra el huésped y anemia aplásica o para promover el prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas, especialmente, considerando los factores mencionados anteriormente. Una composición farmacéutica de la presente invención se puede formular para ser de acción corta, liberación rápida, acción prolongada o liberación lenta.

Además, una composición farmacéutica según la presente invención puede comprender agentes biológicamente activos adicionales, dependiendo del uso pretendido de la composición farmacéutica.

La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender además al menos un fármaco inmunosupresor, en particular, una cantidad eficaz de al menos un fármaco inmunosupresor. El fármaco inmunosupresor puede ser, por ejemplo, al menos un fármaco seleccionado de entre el grupo que consiste en corticosteroides, en particular, 6-metilprednisolona y ciclosporina, en particular, ciclosporina A. Asimismo, la composición farmacéutica puede comprender una combinación de terapias donde el segundo ingrediente activo no se incluye en la misma composición que el anticuerpo anti-CD26.

En una realización, la composición farmacéutica de la presente invención (por ejemplo, para tratar y/o prevenir al menos una de la enfermedad del injerto contra el huésped y anemia aplásica o para promover el prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas) que comprende al menos un anticuerpo de la presente invención, en particular, una mezcla de anticuerpos de la presente invención, puede comprender uno o más corticosteroides, uno o más antihistamínicos, agua y cloruro de sodio. En particular, la composición farmacéutica puede comprender además uno o más corticosteroides, uno o más antihistamínicos y disolución salina, por ejemplo, disolución salina fisiológica (especialmente, disolución salina que contiene NaCl aproximadamente al 0,9 % p/v). En particular, estas composiciones farmacéuticas acuosas se pueden administrar por infusión, especialmente difusión lenta, en particular, por administración intravenosa. El al menos un anticuerpo de la presente invención, en particular, los anticuerpos producidos por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002, uno o más corticosteroides y uno o más antihistamínicos, cada uno solo o en combinación, pueden estar presente preferiblemente en una cantidad terapéuticamente eficaz. En particular, la composición farmacéutica puede comprender el al menos un anticuerpo de la presente invención en una cantidad entre 1 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día y 4,5 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día para su uso en el tratamiento y/o prevención de la enfermedad del injerto contra el huésped o puede comprender para su uso en el tratamiento y/o prevención de la anemia aplásica al menos un anticuerpo de la presente invención en una cantidad entre 1 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día y 2 mg de anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día. Asimismo, la composición farmacéutica puede comprender intervalos actualmente preferidos de cantidades y cantidades de al menos un anticuerpo de la presente invención, en particular, la mezcla de anticuerpos tal como se discute en la presente memoria. Asimismo, la composición farmacéutica puede comprender una combinación de terapias donde el segundo ingrediente activo no se incluye en la misma composición que el anticuerpo anti-CD26.

Los corticosteroides son conocidos en la técnica y pueden comprender, en particular, mineralocorticoides y glucocorticoides. Los glucocorticoides pueden ser agentes antiinflamatorios. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término corticosteroides puede incluir esteroides que se pueden producir, en particular, en la corteza suprarrenal de vertebrados, al igual que puede abarcar corticosteroides sintéticos o análogos de corticosteroides sintéticos o naturales, incluidos compuestos que imitan la actividad de hormonas esteroideas naturales, tales como, por ejemplo, cortisona e hidrocortisona. En particular, los análogos de corticosteroides pueden abarcar compuestos químicos sintéticos o naturales que se parecen en estructura y/o función a cualquier esteroide que existe de manera natural elaborado por la corteza suprarrenal.

Uno o más corticosteroides se pueden seleccionar de entre el grupo que consiste en dipropionato de alclometasona, amcinonida, amcinafel, amcinafida, beclametasona, betametasona, dipropionato de betametasona, valerato de betametasona, propionato de clobetasona, cloroprednisona, clorcortelona, cortisol, cortisona, cortodoxona, diacetato de difluorasona, descinolona, desonida, difluprednato, dihidroxicortisona, desoximetasona, dexametasona, deflazacort, diflorasona, diacetato de diflorasona, diclorisona, ésteres de betametasona, fluazacort, flucetonida, flucoronida, fludrotisona, fluorocortisona, flumetasona, flunisolida, fluocinonida, fluocinolona, acetonida de fluocinolona, flucortolona, fluperolona, fluprednisolona, acetonida de fluoandrenolona, acetonide de fluocinolona, flurandrenolida, fluorametolona, propionato de fluticasona, hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona, hidrocortamato, loteprednol, medrisona, meprednisona, metilprednisona, metilprednisolona, 6-metilprednisolona, furoato de mometasona, parametasona, acetato de parametasona, prednisona, prednisolona, prednidona, prednicarbato, acetonida de triamcinolona, hexacetono de triamcinolona, tixocortol prednisolona y triamcinolona, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, derivados de los mismos y mezclas de los mismos.

Los antihistamínicos se conocen en la técnica y pueden ser, en particular, fármacos farmacéuticos que pueden reducir o contrarrestar la acción de la histamina. En particular, un antihistamínico puede ser un antagonista del receptor H<sub>1</sub>.

Uno o más fármacos antihistamínicos se pueden seleccionar, en particular, entre el grupo que consiste en astemizol, azelastina, buclizina bromfeniramina, clorfeniramina, cetirizina, clemastina, ciclizina, desloratidina, dexbromfeniramina, difenhidramina, doxilamina, ebastina, emedastina, epinastina, fexofenadina, hidroxizina, ketotifeno, levocabastina, levocetirizina, loratidina, mequitazina, mizolastina, olopatadina, oxatomida, fenindamina, feniramina, pirlamina, terfenidina, triprolidina, sales farmacéuticamente aceptables, isómeros y profármacos de los mismos.

Según un aspecto, la presente invención proporciona un kit que comprende: (I) al menos un anticuerpo de la presente invención, en particular, una mezcla de anticuerpos o una composición que comprende una mezcla de anticuerpos; y, adicionalmente, (II) a) al menos un fármaco inmunosupresor, por ejemplo, al menos un fármaco inmunosupresor seleccionado entre el grupo que consiste en corticosteroides y ciclosporina, en particular, ciclosporina A o b) al menos un corticosteroide y al menos un antihistamínico. El al menos un anticuerpo puede comprender o consistir en los anticuerpos producidos por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002. En particular, el kit puede comprender el al menos un anticuerpo de la presente invención en una cantidad entre 1 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día y 4,5 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día para su uso en el tratamiento y/o prevención de la enfermedad del injerto contra el huésped o puede comprender para su uso en el tratamiento y/o prevención de anemia aplásica al menos un

anticuerpo de la presente invención en una cantidad entre 1 mg de dicho al menos un anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día y 2 mg de anticuerpo/m<sup>2</sup> de superficie corporal por día. Asimismo, la composición farmacéutica puede comprender intervalos preferidos de cantidades y cantidades de al menos un anticuerpo de la presente invención tal como se discute en la presente memoria.

- 5 El kit puede ser un kit para su uso como medicamento, en particular, un kit para prevenir y/o tratar la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), preferiblemente, después de trasplante de células madre hematopoyéticas, y/o un kit para su uso en el tratamiento de la anemia aplásica, preferiblemente, anemia aplásica grave, y/o un kit para promover el prendimiento del injerto después de trasplante de células madre hematopoyéticas. Las expresiones kit de componentes y kit se utilizan indistintamente en la presente memoria.
- 10 La producción *in vivo* e *in vitro* de anticuerpos de la invención en animales transgénicos, obtenidos por medio de manipulación genética de animales no humanos, en particular, mamíferos no humanos, utilizando al menos una de las secuencias de nucleótidos descritas en la presente invención por medio de métodos conocidos por un experto, está comprendida también en el alcance de la presente invención.
- En lo que sigue, la presente invención se describirá con más detalle con referencia a los siguientes ejemplos no limitativos. Sin embargo, se entenderá que la presente invención no está limitada por los siguientes ejemplos.
- 15

### Ejemplos

#### Ejemplo 1

Determinación de secuencias de nucleótidos

Este proceso se puede resumir en tres fases:

#### 20 Fase I - Clonación de los genes que codifican cadenas de anticuerpos

- Extracción del ARN total a partir de las células de hibridoma que producen CDina26 (depósito de la línea celular de hibridoma con la referencia PD 12002, véase lo anterior);
- Transcripción inversa;
- Amplificación del gen de interés utilizando oligonucleótidos específicos como cebadores;

25

- Clonación del gen utilizando un vector procariota;
- Transformación bacteriana;
- Control del procedimiento de clonación, seleccionando clones transformados adecuados.

Fase II - Secuenciación de los genes que codifican cadenas variables de anticuerpos y análisis bioinformático:

- Elección y secuenciación de 100 colonias tanto para cadenas VH como VL;

30

- Análisis bioinformático de las secuencias;
- Generación de una secuencia de consenso, si se requiere, para las cadenas VL y VH e indicación de la secuencia de consenso de diferentes bases y su porcentaje.

Fase III - Secuenciación de los genes que codifican cadenas constantes de anticuerpos

- Secuenciación de la cadena CL correspondiente para la cadena VL;

35

- Secuenciación de la cadena CH1-CH2-CH3 correspondiente para la cadena VH.

Los resultados muestran la presencia en muestras de ARNm de tres grupos de secuencias de cadenas VL (grupo 1 de VL, grupo 2 de VL y grupo 3 de VL) y tres grupos de secuencias de cadenas VH (grupo 1 de VH, grupo 2 de VH).

Determinación de secuencia de aminoácidos

- 40 Se utilizaron análisis de espectrometría de masas y la secuenciación de N-terminal para confirmar la secuencia de aminoácidos presente en la muestra de CDina26. La muestra de CDina26 confirmó la presencia del grupo 1 de VL y su secuencia de CL relacionada, de la cadena del grupo 3 de VL y del grupo 1 de VH relacionado con su cadena CH1-CH2-CH3. Ni el grupo 2 de las secuencias VL ni el grupo 2 de las secuencias VH se han detectado como secuencias de aminoácidos en la muestra del anticuerpo CDina26.

#### Ejemplo 2

Unión de CDina26 a CD26 humana y porcina

La unión de CDina26 a CD26 humana se ha comparado con su unión a CD26 de minicerdo por medio de ensayo Biacore® y citometría de flujo multiparamétrica. El CDina26 no es capaz de reconocer el antígeno porcino como proteína soluble ni como proteína transmembrana expresada en linfocitos T.

- 5 1. El análisis de citometría de flujo se utilizó para determinar la capacidad de CDina26 de unirse a la CD26 expresada en la superficie celular.

Se aislaron los linfocitos de las muestras de sangre periférica humana y de minicerdo por medio de centrifugación en gradiente de densidad. La unión de CDina26 a los linfocitos T humanos se analizó por medio de citometría de flujo multiparamétrica.

- 10 Más de un 45 % de linfocitos T humanos que expresan el marcador CD3 se unen a CDina26. Por el contrario, solo un 2 % de linfocitos T porcinos que expresan el marcador CD3 se unen a CDina26. Esto se puede ver en la Figura 9.

2. La unión de CDina26 tanto a antígeno humano como porcino (comprado a Sigma, n.º de catálogo D4943 y D7052) se analizó por medio de Biacore®.

- 15 El CDina26 se capturó en la matriz por un anticuerpo Ig anti-ratón policlonal inmovilizado previamente en una cubeta de lectura del chip sensor de Biacore® T100. Tanto el antígeno humano como el porcino se inyectaron en disolución sobre el CDina26 inmovilizado.

El antígeno humano, inyectado en dos concentraciones sobre el CDina26 inmovilizado, dio una respuesta dependiente de dosis con una alta afinidad de unión, indicada por una velocidad de disociación cinética de  $2,8 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ .

- 20 El antígeno porcino, inyectado sobre CDina26 inmovilizado, no dio unión.

La Figura 11 muestra la unión del antígeno (Ag) humano (izquierda) y porcino (derecha) en CDina26 capturada, medida en unidades de resonancia (UR) de Biacore®.

Ejemplo 3

Producción de anticuerpos

- 25 El CDina26 se produce por el depósito de la línea celular de hibridoma en el CBA-ICLC de Génova (Italia) con la referencia PD 12002. Los hibridomas se pueden cultivar en medio libre de suero. El CDina26 comprende una mezcla de anticuerpos murinos. En particular, el CDina26 comprende un anticuerpo monoclonal murino, que es de la clase IgG 2B y se une específicamente a CD26 humana.

- 30 Una composición farmacéutica que comprende CDina26 está presente en forma de una disolución clara sin color que contiene CDina26, dicha disolución se puede utilizar para infusión intravenosa (por ejemplo, 1 mg de CDina26/1 ml de disolución; la disolución se puede contener en un vial).

Ejemplo 4

Estudio farmacodinámico *in vitro*

- 35 Los estudios farmacodinámicos *in vitro* se realizaron para la caracterización de anticuerpo monoclonal murino contra CD26, en particular, para la caracterización de los anticuerpos producidos por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002, denominado en la presente memoria como CDina26.

El objetivo de estos estudios fue evaluar la expresión y la unión específica a CD26 en la superficie de la población celular implicada en la respuesta inmunitaria, en particular:

- Linfocitos T
- 40 • Linfocitos B
- Células NK (citotóxicas naturales)
- Monocitos
- Células dentríticas

Ejemplo 4a

- 45 La expresión del antígeno de CDina26 se evaluó en células NK, T y B en reposo ( $T_0$ ) purificadas a partir de 5 donantes sanos (correspondientes a entre "ESP.1" a "ESP.5" en la Tabla 1) y luego en células activadas por medio

de estímulo alogénico (cultivo mixto de linfocitos (MLC)), estímulo mitogénico (fitohemaglutinina (PHA)) o estímulo antigénico (*Candida albicans*).

En la presente solicitud, la abreviatura MFIR se utiliza como abreviatura para la intensidad de fluorescencia relativa media como se conoce en la técnica.

5 Tabla 1

Evaluación del porcentaje de CD26 + células e índice de MFIR en subpoblaciones de linfocitos en donantes sanos antes y después de estímulo mitogénico con PHA.

En las columnas tituladas “% de CD26” y “MFIR”, respectivamente, el primer valor corresponde a T<sub>0</sub>, el segundo valor después de la flecha corresponde a las células estimuladas:

10 A, aumento en el valor o un porcentaje de expresión (MFIR)

D, disminución en el valor o un porcentaje de expresión (MFIR)

T<sub>0</sub> es la abreviatura para Tiempo 0, es decir, para el punto en el tiempo que precede la estimulación celular.

ESP. 1	PHA	% de CD26	MFIR
<b>subpoblaciones</b>			
T CD3+/CD4+		86→84 D	5→ 3 D
T CD3+/CD8+		75→67 D	6→14 A
T CD3+/CD16+		16→61 A	1→ 6 A
T CD3+/CD56+		36→68 A	4→ 7 A
NK CD3-/CD16+		11→58 A	0→ 1 A
NK CD3-/CD56+		10→32 A	0→ 1 A
B CD19+/CD20+		13→80 A	2→10 A

ESP. 2	PHA	% de CD26	MFIR
<b>subpoblaciones</b>			
T CD3+/CD4+		74→91 A	10→ 9 D
T CD3+/CD8+		57→93 A	15→15
T CD3+/CD16+		16→85 A	2→ 6 A
T CD3+/CD56+		38→97 A	6→18 A
NK CD3-/CD16+		15→50 A	2→ 1 D
NK CD3-/CD56+		10→38 A	1→ 1
B CD19+/CD20+		11→95 A	2→11 A

ESP. 3	PHA	% de CD26	MFIR
<b>subpoblaciones</b>			
T CD3+/CD4+		75→82 A	8→ 7 D
T CD3+/CD8+		45→82 A	4→ 9 A
T CD3+/CD16+		15→69 A	1→ 6 A
T CD3+/CD56+		41→92 A	4→ 9 A
NK CD3-/CD16+		7→14 A	1→ 2 A
NK CD3-/CD56+		6→25 A	1→ 3 A
B CD19+/CD20+		14→92 A	8→10 A

ESP. 4	PHA	% de CD26	MFIR
<b>subpoblaciones</b>			
T CD3+/CD4+		81→83 A	3→10 A
T CD3+/CD8+		53→91 A	2→13 A
T CD3+/CD16+		23→96 A	1→18 A
T CD3+/CD56+		52→94 A	3→14 A
NK CD3-/CD16+		23→67 A	1→ 6 A
NK CD3-/CD56+		14→45 A	0→ 4 A
B CD19+/CD20+		12→92 A	0→14 A

ESP. 5	PHA	% de CD26	MFIR
<b>subpoblaciones</b>			
T CD3+/CD4+		74→92 A	30→10 D
T CD3+/CD8+		48→92 A	11→12 A
T CD3+/CD16+		9→81 A	2→13 A
T CD3+/CD56+		15→91 A	14→11 D
NK CD3-/CD16+		8→12 A	2→ 5 A
NK CD3-/CD56+		3→20 A	2→ 3 A
B CD19+/CD20+		3→90 A	2→10 A

15 Como se puede ver en la Tabla 1, la expresión de CD26 en linfocitos activados mostró un porcentaje aumentado de células CD26+ después de estimulación con PHA en comparación con T<sub>0</sub> con la excepción de T CD3+CD4+ y T CD3+CD8+ en el experimento número 1 ("ESP 1"). El nivel de expresión (valor del índice de MFIR) varió entre las diferentes subpoblaciones T, B y NK y los 5 voluntarios sanos. Además, el estímulo mitogénico parece aumentar moderadamente los valores de MFIR (Tabla 1).

Ejemplo 4b

20 El análisis de los resultados registrados en la Tabla 2 mostró que, en todos los subconjuntos analizados, con la excepción de las subpoblaciones CD3 + CD4 + T de todos los voluntarios sanos, hay un aumento en el porcentaje de linfocitos que expresan el antígeno de CD26 después de estímulo antigénico.

25 En todos los experimentos, excepto en uno ("ESP. 5"), hay un aumento de los valores de MFIR. También se puede observar que el aumento de los valores de MFIR en comparación con el tiempo 0 es mayor en los cultivos estimulados con *Candida* que en aquellos estimulados con PHA. La estimulación del antígeno con *Candida* aumenta significativamente la expresión de la molécula de CD26 en la membrana celular, especialmente en las subpoblaciones T CD3 + CD16+ y T CD56 + CD3 +.

Tabla 2

Evaluación del porcentaje de CD26 + células e índice de MFIR en subpoblaciones de linfocitos en donantes sanos antes y después de estímulo antigénico con *Candida albicans*.

5 En las columnas tituladas “% de CD26” y “MFIR”, respectivamente, el primer valor corresponde a T0, el segundo valor después de la flecha corresponde a las células estimuladas:

A, aumento en el valor o un porcentaje de expresión (MFIR)

D, disminución en el valor o un porcentaje de expresión (MFIR)

ESP. 1 Candida subpoblaciones	% de CD26		MFIR	
T CD3+/CD4+	86→71	D	5→ 8	A
T CD3+/CD8+	75→80	A	6→14	A
T CD3+/CD16+	16→46	A	1→16	A
T CD3+/CD56+	36→68	A	4→13	A
NK CD3-/CD16+	11→11		0→ 4	A
NK CD3-/CD56+	10→32	A	0→ 4	A
B CD19+/CD20+	13→21	A	2→ 3	A

ESP. 2 Candida subpoblaciones	% de CD26		MFIR	
T CD3+/CD4+	74→64	D	10→11	A
T CD3+/CD8+	57→78	A	15→29	A
T CD3+/CD16+	16→98	A	2→36	A
T CD3+/CD56+	38→99	A	6→38	A
NK CD3-/CD16+	15→97	A	2→23	A
NK CD3-/CD56+	10→91	A	1→19	A
B CD19+/CD20+	11→26	A	2→ 5	A

ESP. 3 Candida subpoblaciones	% de CD26		MFIR	
T CD3+/CD4+	75→60	D	8→14	A
T CD3+/CD8+	45→59	A	4→15	A
T CD3+/CD16+	15→30	A	1→89	A
T CD3+/CD56+	41→71	A	4→85	A
NK CD3-/CD16+	7→26	A	1→ 9	A
NK CD3-/CD56+	6→19	A	1→ 7	A
B CD19+/CD20+	14→14		8→ 5	D

ESP. 4 Candida subpoblaciones	% de CD26		MFIR	
T CD3+/CD4+	81→81		3→22	A
T CD3+/CD8+	53→65	A	2→24	A
T CD3+/CD16+	23→90	A	1→76	A
T CD3+/CD56+	52→94	A	3→79	A
NK CD3-/CD16+	23→79	A	1→46	A
NK CD3-/CD56+	14→88	A	0→58	A
B CD19+/CD20+	12→13	A	0→6	A

ESP. 5 Candida subpoblaciones	% de CD26		MFIR	
T CD3+/CD4+	74→4	D	30→ 9	D
T CD3+/CD8+	48→65	A	11→20	A
T CD3+/CD16+	9→87	A	2→39	A
T CD3+/CD56+	15→94	A	14→41	A
NK CD3-/CD16+	8→91	A	2→34	A
NK CD3-/CD56+	3→87	A	2→30	A
B CD19+/CD20+	3→ 6	A	2→11	A

Ejemplo 4c

10 La Tabla 3 muestra que, en todos los experimentos, el porcentaje de linfocitos positivos para el antígeno de CD26 aumentó en todas las subpoblaciones de linfocitos presentes después de estimulación con cultivo mixto de linfocitos con la excepción de la subpoblación CD3 + CD4 + T.

Tabla 3

15 Evaluación del porcentaje de CD26 + células e índice de MFIR en subpoblaciones de linfocitos en donantes sanos antes y después de estímulo alogénico con MLC (cultivo mixto de linfocitos).

En las columnas tituladas “% de CD26” y “MFIR”, respectivamente, el primer valor corresponde a T0, el segundo valor después de la flecha corresponde a las células estimuladas:

A, aumento en el valor o un porcentaje de expresión (MFIR)

D, disminución en el valor o un porcentaje de expresión (MFIR)

ESP. 1	MLC	% de CD26	MFIR
subpoblaciones			
T CD3+/CD4+		86→67 D	5→ 6 A
T CD3+/CD8+		70→75 A	6→ 8 A
T CD3+/CD16+		16→83 A	1→ 9 A
T CD3+/CD56+		36→89 A	4→11 A
NK CD3-/CD16+		11→74 A	0→ 5 A
NK CD3-/CD56+		10→70 A	0→ 5 A
B CD19+/CD20+		13→19 A	2→ 3 A

ESP. 2	MLC	% de CD26	MFIR
subpoblaciones			
T CD3+/CD4+		74→63 D	10→10
T CD3+/CD8+		57→75 A	15→18 A
T CD3+/CD16+		16→86 A	2→19 A
T CD3+/CD56+		38→95 A	6→18 A
NK CD3-/CD16+		15→17 A	2→11 A
NK CD3-/CD56+		10→84 A	1→ 9 A
B CD19+/CD20+		11→11	2→ 2

ESP. 3	MLC	% de CD26	MFIR
subpoblaciones			
T CD3+/CD4+		75→57 D	8→ 18 A
T CD3+/CD8+		45→53 A	4→ 25 A
T CD3+/CD16+		15→48 A	1→ 67 A
T CD3+/CD56+		41→77 A	4→166 A
NK CD3-/CD16+		7→51 A	1→13 A
NK CD3-/CD56+		6→47 A	1→13 A
B CD19+/CD20+		14→25 A	8→22 A

ESP. 4	MLC	% de CD26	MFIR
subpoblaciones			
T CD3+/CD4+		81→76 D	3→12 A
T CD3+/CD8+		53→78 A	2→18 A
T CD3+/CD16+		23→83 A	1→16 A
T CD3+/CD56+		52→89 A	3→18 A
NK CD3-/CD16+		23→87 A	1→10 A
NK CD3-/CD56+		14→79 A	0→11 A
B CD19+/CD20+		12→27 A	0→ 6 A

ESP. 5	MLC	% de CD26	MFIR
subpoblaciones			
T CD3+/CD4+		74→62 D	30→11 D
T CD3+/CD8+		48→68 A	11→13 A
T CD3+/CD16+		9 →85 A	2 →19 A
T CD3+/CD56+		15→93 A	14→24 A
NK CD3-/CD16+		8 →85 A	2 →13 A
NK CD3-/CD56+		3 →85 A	2 →15 A
B CD19+/CD20+		3 →28 A	2 →11 A

El índice de MFIR aumentó después de la estimulación en comparación con el tiempo 0 en todos los subconjuntos y en todos los experimentos, con la excepción de la subpoblación de CD4 + CD3 + T en los experimentos número 2 ("ESP.2") y número 5 ("ESP.5").

- 5 Similar a la estimulación con cándida, la estimulación alógena aumenta constantemente la expresión del antígeno de CDina26 y el índice de MFIR en la mayoría de las subpoblaciones de linfocitos. Un aumento significativo se observó principalmente en subpoblaciones de CD16 + CD3 + T y CD56 + CD3 + T en el experimento número 3 ("ESP.3").

Ejemplo 4d

- 10 Por último, la expresión del antígeno de CDina26 se investigó en subpoblaciones de leucocitos en pacientes después de TCMH alógeno. En particular, dos pacientes se evaluaron durante las pruebas iniciales para monitorizar la reconstitución inmunitaria después del trasplante, a pesar de que cuatro pacientes desarrollaron EICH agua, fue posible llevar a cabo la evaluación tanto durante la aparición de EICH como después de la resolución. En comparación con los controles, los pacientes mostraron una distribución sumamente variable de las subpoblaciones T, NK y B (Tabla 4), que es compatible con el proceso de reconstitución hematopoyética que se produce en los meses siguientes al trasplante.

Tabla 4

Distribución (medida como %) de subpoblaciones de linfocitos en 6 pacientes que se sometieron a TCMH evaluada en el momento de la reconstitución inmunitaria y en comparación con el intervalo obtenido al evaluar a 5 donantes sanos.

\* En el momento de la evaluación, los pacientes habían desarrollado EICH aguda de grado II.

Subpoblación	Porcentaje (%)						
	Intervalo	Pacientes					
		CK	IP	BGL*	BG*	CJ*	DF*

Subpoblación	Intervalo	Porcentaje (%)					
		Donantes sanos		Pacientes			
		CK	IP	BGL*	BG*	CJ*	DF*
T CD3+/CD4+	44-58	6	12	22	6	7	12
T CD3+/CD8+	20-30	69	40	42	50	7	10
T CD3+/CD16+	5-10	3	4	17	9	4	10
T CD3+/CD56+	4-10	2	10	11	2	2	13
NK CD3-/CD16+	2-9	14	18	13	8	52	34
NK CD3-/CD56+	7-15	18	17	1	8	67	67
B CD20+/CD19+	3-7	0	7	0	1	0	5

Al analizar el porcentaje de CD26 (Tabla 5) en todos los pacientes, hubo un aumento de la expresión de esta molécula en las subpoblaciones T CD16 + CD3 + y T CD56 + CD3 + y NK en comparación con el intervalo de control.

5 Tabla 5

Distribución (medida como %) de CD26 + células en subpoblaciones de linfocitos en 6 pacientes que se sometieron a TCMH evaluada en el momento de la reconstitución inmunitaria y en comparación con el intervalo obtenido al evaluar a 5 donantes sanos.

\* En el momento de la evaluación, los pacientes habían desarrollado EICH aguda de grado II.

Subpoblación	Intervalo	% de CD26					
		Donantes sanos		Pacientes			
		CK	IP	BGL*	BG*	CJ*	DF*
T CD3+/CD4+	74-86	58	58	90	60	86	97
T CD3+/CD8+	45-75	29	22	68	25	74	93
T CD3+/CD16+	9-23	30	53	90	15	82	96
T CD3+/CD56+	15-52	54	47	100	90	86	95
NK CD3-/CD16+	7-23	33	21	33	17	61	49
NK CD3-/CD56+	3-14	36	25	37	19	74	54

	% de CD26						
	Donantes sanos	Pacientes					
Subpoblación	Intervalo	CK	IP	BGL*	BG*	CJ*	DF*
B CD20+/CD19+	3-14	0	36	0	0	0	93

5 En los pacientes que desarrollaron EICHa, en algunos casos, el valor del porcentaje es mayor que en los pacientes libres de esta complicación (CK, IP). El paciente DF mostró porcentajes significativamente mayores de CD26 en todos los subconjuntos, un índice de activación celular fue muy pronunciado y no fue posible estimar el índice de MFIR de la molécula de CD26.

En los dos pacientes que no desarrollaron EICHa, el índice mostró que los valores de MFIR se encontraban en el intervalo de control, mientras que en tres con EICHa en curso, los valores de MFIR aumentaron en casi todos los subconjuntos, y más especialmente en las subpoblaciones T CD3 + CD16 + y CD3 + T CD56 + (Tabla 6).

Tabla 6

10 Distribución (medida como MFIR) de CDina26 + células en subpoblaciones de linfocitos en 6 pacientes que se sometieron a TCMH evaluada en el momento de la reconstitución inmunitaria y en comparación con el intervalo obtenido al evaluar a 5 donantes sanos.

		Índice de MFIR					
		Donantes sanos	Pacientes				
Subpoblación	Intervalo	CK	IP	BGL*	BG*	CJ*	DF*
T CD3+/CD4+	3-30	3	1	62	25	21	NA
T CD3+/CD8+	2-15	1	2	25	7	23	NA
T CD3+/CD16+	1-2	2	1	89	9	23	NA
T CD3+/CD56+	3-14	4	2	165	37	40	NA
NK CD3-/CD16+	0-2	1	1	5	5	7	NA
NK CD3-/CD56+	0-2	1	1	6	3	8	NA
B CD20+/CD19+	0-8	0	1	0	0	0	NA

NA.: no aplica

15 Ejemplo 4e

La expresión de CD26 también se estudió en células madre mesenquimales, células endoteliales y fibroblastos.

20 Se establecieron tres experimentos utilizando células madre mesenquimales (CMM), se propagaron *in vitro* a partir de médula ósea de tres adultos sanos. El análisis por medio de citometría de flujo mostró que las células positivas para CD13 y CD73, marcadores característicos de CMM, son, sin embargo, negativas para la expresión de CD26 (antígeno de CDina26). Se establecieron tres experimentos utilizando células endoteliales (CE) de cordón umbilical de tres sujetos sanos. Las células endoteliales son negativas para la expresión de CD26 (antígeno de CDina26).

Se establecieron tres experimentos utilizando fibroblastos de la piel derivados de tres adultos sanos. El análisis por medio de citometría de flujo demostró que un 40 % de los fibroblastos expresaron CD26 (intervalo 32 %-45 %) con un índice de MFIR entre 4 a 13.

5 Se establecieron tres experimentos utilizando células dendríticas diferenciadas *in vitro*. El análisis de citometría de flujo mostró que las células positivas para CD1a, un marcador característico de CE diferenciadas *in vitro*, son, sin embargo, negativas para la expresión de CD26.

La citometría de flujo mostró que las células monocitos positivas para CD14 son positivas para la expresión de CD26 (intervalo 97 %-100 %) con un índice de MFIR variable entre 1 a 17.

10 Estos datos demostraron que las subpoblaciones T y NK aumentaron tanto el porcentaje como la expresión del antígeno de CDina26 (MFIR) en la superficie de la membrana.

En pacientes con EICHa una expresión aumentada de CD26 se puede observar en T CD3+CD16+, T CD3+CD56+ y NK en comparación con donantes sanos.

15 Estos datos resumen la capacidad de anticuerpos monoclonales anti-CD26 de CDina26 de unirse específicamente a células T reguladoras activadas, lo que interfiere con su expansión y su papel en la modulación de la respuesta inmunitaria en EICHa.

Ejemplo 5

Estudios clínicos: Tratamiento de la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH)

Un estudio clínico se llevó a cabo para establecer la inocuidad y eficacia de CDina26 en un paciente con EICHa (enfermedad del injerto contra el huésped aguda).

20 Resumen

25 Los pacientes que participaron en el estudio recibieron una dosis fija de CDina26 de 2 mg/día (lo que se corresponde con una media de 1,11 mg/m<sup>2</sup> por día) durante 5 días consecutivos. La composición administrada a los pacientes incluyó el anticuerpo de la presente invención en un intervalo entre 2 y 10 mg según la superficie corporal diluidos en 100 ml de disolución salina estéril junto con corticosteroides y antihistamínico. Los pacientes continuaron recibiendo su tratamiento estándar de EICH (6-metilprednisolona 1-2 mg/kg/día i.v. y ciclosporina). El tratamiento complementario fue la terapia convencional antibacteriana, antifúngica y antivírica. En la presente solicitud, las unidades mg/m<sup>2</sup> y mg/(m<sup>2</sup> de superficie corporal) se utilizan indistintamente.

La principal evaluación de este estudio fue la frecuencia de pacientes "que respondían" al tratamiento estudiado, evaluada en el día 10 después de 5 días de terapia.

30 La definición de la reactividad se basó en los siguientes criterios:

- Respuesta completa (RC) → resolución de todos los signos de EICH
- Respuesta parcial (RP) → mejora en la estadificación de EICH
- Estabilidad → sin cambios en la estadificación de EICH
- Agravamiento → agravamiento en la estadificación de EICH

35 Los pacientes con respuesta completa o parcial se consideraron reactivos.

Tabla 7

Estadificación de EICH aguda de Glucksberg (Glucksberg *et al.*, 1974).

Órgano	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4
Exantema maculopapuloso	<25 % de superficie corporal	25-50 % de superficie corporal	Eritrodermia generalizada	Eritrodermia generalizada con formación de vesículas y descamación
Bilirrubina hepática	2-3 mg/dl	3,1-6 mg/dl	6,1-15 mg/dl	> 15 mg/dl
Diarrea GI	> 500 ml/día	> 1000 ml/día	> 1500 ml/día	> 1500 ml/día Dolor abdominal

Órgano	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4
Exantema maculopapuloso	<25 % de superficie corporal	25-50 % de superficie corporal	Eritrodermia generalizada	Eritrodermia generalizada con formación de vesículas y descamación
				grave con o sin íleo

Tabla 8

Estadificación de EICH aguda de Glucksberg (Glucksberg *et al.*, 1974).

Grado total	Piel	Hígado	GI	ECOG
I	1-2	0	0	0
II	1-3	1	y/o 1	0-1
III	2-3	2-4	y/o 2-3	2-3
IV	2-4	2-4	y/o 2-4	3-4

GI: tracto gastrointestinal.

5 Estado de rendimiento del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este de los EE. UU. (ECOG):

Las evaluaciones adicionales incluyen lo siguiente:

- estadificación de EICH, órgano por órgano (esta evaluación se lleva a cabo en el día +10 y día +30);
  - aparición de complicaciones tales como: infección, hemorragia, necesidad de transfusión (esta evaluación se lleva a cabo hasta el final de la hospitalización en el día +30);
- 10 • en la visita del año 1, se registraron los siguientes parámetros: estado de supervivencia, índice de Karnofsky, EICH crónica, posible recaída de la enfermedad hematológica por la que se realizó el trasplante, posible aparición de un nuevo tumor.

Características demográficas y otras características iniciales

15 Se incluyeron once pacientes en el conjunto de datos para la evaluación de la eficacia. Siete pacientes tuvieron EICHa de grado III, un paciente tuvo EICH de grado IV y un paciente tuvo EICH de grado II.

El tiempo medio de aparición de EICHa fue de 10 días (intervalo 4-73 días).

Todos los pacientes tuvieron EICHa que se consideró de alto riesgo debido a la implicación de órganos viscerales.

20 Evaluación de la eficacia: la frecuencia de pacientes "que respondieron" a 2 mg de CDina26 i.v. administrada diariamente durante cinco días consecutivos, en un seguimiento medio actual de 433 días es de 11 sobre 12 (90 %): seis (6) respuestas completas, cinco (5) respuestas parciales y uno (1) sin respuesta.

Después de los datos en cuatro pacientes (pac. 01, 03, 12, 14) en estadificación de EICH aguda de Glucksberg. Se utilizaron las siguientes abreviaturas en la siguiente Tabla:

25 Pre CDina26 significa el grado de EICH de los pacientes antes del tratamiento con CDina26; mejor CDina26 significa el mejor valor del grado de EICH de los pacientes después del tratamiento con CDina26; CDina26 final significa el valor más reciente del grado de EICH de los pacientes; los valores de seguimiento representan los días después del tratamiento con CDina26.

Tabla 9

	Pre CDina26	Mejor CDina26	CDina26 final	

ID	EICH piel	EICH hígado	EICH intestino	Grado de EICH	EICH piel	EICH hígado	EICH intestino	Grado de EICH	EICH piel	EICH hígado	EICH intestino	Grado de EICH	Seguimiento	Respuesta
Pac. 01	2	0	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	365	RC
Pac. 03	2	0	3	3	0	0	0	0	2	0	0	1	365	RP
Pac. 12	2	0	0	2	0	0	0	0	1	0	1	1	341	RP
Pac. 14	0	0	2	2	0	1	0	0	0	1	0	0	208	RC

La Figura 4a muestra la estadificación de EICH cutánea, día 1, 10, 30 y último día ("último" en la Figura 4a) del paciente en el estudio. La 4b ilustra la estadificación de EICH hepática, día 1, 10, 30 y último día del paciente en el estudio. La 4c muestra la estadificación de EICH intestinal, día 1, 10, 30 y último día del paciente en el estudio.

5 Recuperación inmunológica

La inmunodeficiencia es común en pacientes con EICH aguda, especialmente después de un tratamiento prolongado con esteroides, y las infecciones son la consecuencia de la inmunodeficiencia combinada grave. La Figura 5 resume los recuentos absolutos de CD4 en 6 pacientes. Los recuentos de CD4 tienden a aumentar o a permanecer fundamentalmente estables después de terapia con CDina26, en vez de mostrar una disminución, como se esperaría en el caso de una actividad citolítica fuerte del anticuerpo. La unidad "recuentos/ul" significa los recuentos por microlitro de sangre de un paciente.

Breve resumen de las reacciones adversas

La inocuidad de CDina26 se ha examinado a través de una revisión de las reacciones adversas. Las toxicidades graves que implican a los sistemas hematológico y respiratorio se consideraron como consecuencias esperadas del régimen de acondicionamiento y proceso del trasplante. En general, se registraron 8 reacciones adversas graves y 26 no graves como no relacionadas con el tratamiento con CDina26. Las reacciones adversas registradas con más frecuencia se relacionaron con las SOC (clasificación de órganos del sistema) "infecciones e infestaciones" (n=5), "trastornos renales y urinarios" (n=5), "trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos" (n=5) y trastornos el tejido cutáneo y subcutáneo" (n=4).

Las infecciones son una complicación frecuente de EICH aguda y terapia con esteroides. Por lo tanto, no fue inesperado ver un número de episodios infecciosos en los pacientes.

Ocho reacciones adversas fatales tuvieron lugar después del día +100. Ninguna de esas se consideró como relacionada con el tratamiento con CDina26.

Debido al hecho de que la enfermedad del injerto contra el huésped resistente a los esteroides después de trasplante de células madre hematopoyéticas se asocia con una alta tasa de mortalidad, la mortalidad relacionada con el trasplante (muertes debido a complicaciones relacionadas con el trasplante, la mayoría de las cuales se asocian con EICHa) se evaluó.

Considerando todos los pacientes tratados con CDina26, la incidencia de la mortalidad relacionada con el trasplante (MRT) después de 6 meses de tratamiento es un 25 % (3 de 12). Entre MRT, dos pacientes murieron de EICH. Ninguno de estos se consideró como relacionado con el tratamiento con CDina26.

La Figura 6 resume la incidencia acumulativa proyectada de la mortalidad relacionada con el trasplante de 13 pacientes de control con EICH aguda de grado III-IV, tratados con esteroides, ciclosporina y otros fármacos inmunosupresores, en comparación con 9 pacientes tratados con esteroides, ciclosporina y CDina26.

La incidencia acumulativa de la mortalidad relacionada con el trasplante en los 9 pacientes que recibieron CDina26 es actualmente un 12 %, en comparación con el 62 % para los controles compatibles que no recibieron CDina26 (p=0,02).

La Figura 7 resume la supervivencia actuarial proyectada de 13 pacientes de control con EICH aguda de grado III-IV, tratados con esteroides, ciclosporina y otros fármacos inmunosupresores, en comparación con 9 pacientes tratados con esteroides, ciclosporina y CDina26. El valor p es 0,2.

En conclusión, los pacientes con CDina26 muestran una mortalidad menor que los pacientes sin CDina26, es decir, los pacientes que no se trataron con CDina26.

Conclusiones

5 Los resultados de la terapia con el anticuerpo monoclonal murino contra CD26 para EICH aguda resistente a los esteroides en 11 pacientes han sido extremadamente alentadores, tanto en términos de respuesta como de supervivencia. Dada la falta de una medición terapéutica eficaz en estas circunstancias y dada la falta de cualquier mejora en la terapia y el resultado durante las últimas 3 décadas, el CDina26 dio lugar a una alta tasa de respuesta y a una alta proporción de pacientes supervivientes. Se ha señalado que la mortalidad relacionada con el trasplante (MRT) atribuida directamente al trasplante y a sus complicaciones es un 62 % para pacientes de control con EICH III-IV que no recibieron el anticuerpo monoclonal murino contra CD26, y un 25 % para los pacientes que recibieron CDina26. Se piensa que estos resultados son muy prometedores para el profesional clínico.

Ejemplo 6

10 Una composición farmacéutica que contiene al menos un anticuerpo de la presente invención, en particular, que contiene los anticuerpos producidos por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002, CDina26, tiene, por ejemplo, la siguiente composición:

Tabla 10

Componente	Cantidad por vial
Al menos un anticuerpo de la presente invención, en particular, los anticuerpos producidos por el depósito de la línea celular de hibridoma PD 12002, CDina26	1 mg
DPBS (Disolución salina tamponada con fosfato de Dulbecco)	1 ml
-----	-----
1 ml de DPBS que comprende:	
KCl	0,2 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,2 mg
NaCl	8 mg
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	2,16 mg
Agua para inyección	A 1 ml

15 Esta composición farmacéutica se puede administrar, en particular, por inyección intravenosa.

Ejemplo 7

Tratamiento de AAG (anemia aplásica grave)

20 Un paciente con AAG adquirida desarrolló pancitopenia después de un TCMH alogénico. El paciente tuvo un quimerismo de CD3 mixto (37 % autólogo) que sugiere la persistencia de las células T autoagresoras, lo que provocó aplasia. El quimerismo del donante en células de la médula ósea fue un 100 % del donante.

El paciente recibió una tanda de anticuerpos monoclonales anti-CD26 CDina26, 2 mg/día i.v. (2 mg de CDina26 proporcionados en forma de disolución para administración intravenosa) durante 5 días, como paciente ambulatorio, en un hospital de día. El tratamiento se toleró bien y no tuvo reacciones adversas.

Los hemogramas del paciente después del tratamiento son los siguientes:

	Hb	Gb	PI
120 días antes del tratamiento	10	1,7	70
7 días antes del tratamiento	8,9	1,6	12

25 Durante cinco días se llevó a cabo el tratamiento con anticuerpos anti-CD26.

6 días después del tratamiento	8,4	2,6	22
20 días después del tratamiento	7,6	2,5	22
31 días después del tratamiento	10,4	4,8	32
48 días después del tratamiento	9,2	3,9	42
87 días después del tratamiento	9,7	4,4	66

(Los hemogramas se obtuvieron 87 días después del tratamiento, es decir, casi 3 meses después del tratamiento, con anticuerpo anti-CD26). Se utilizaron las siguientes abreviaturas: Hb (hemoglobina), Gb (glóbulos blancos), Pl (plaquetas). Los datos anteriores muestran que la inhibición de CD26 puede ser beneficiosa en pacientes con AA adquirida, debido a su efecto inmunomodulador y al papel en la migración dirigida de linfocitos.

Ejemplo 8

Mapeo del epítipo de PD 12002

Los epítipos reconocidos por el anticuerpo CDina26 producidos por la línea celular de hibridoma depositada como PD 12002 se han identificado por medio de tecnología de mapeo de epítipos CLIPS™. Véanse, por ejemplo, los documentos US 7863239 y US 7972993, cuyas descripciones se incorporan a la presente memoria a modo de referencia en su totalidad. En síntesis, la tecnología CLIPS™ fija estructuralmente péptidos en estructuras tridimensionales definidas. Esto da lugar a miméticos funcionales de incluso los sitios de unión más complejos. La reacción de CLIPS™ tiene lugar entre los grupos bromo de la estructura de CLIPS™ y las cadenas laterales de tiol de las cisteínas. La reacción es rápida y específica en condiciones moderadas (Timmerman *et al.*, J. Mol. Recognit. 2007; 20: 283-29).

El cribado de las colecciones de CLIPS™ empieza con la conversión de la proteína diana CD26 humana en una colección de constructos peptídicos solapados, utilizando un diseño de matriz combinatoria. En un vehículo sólido, se sintetiza una matriz de péptidos lineales, que se moldean subsecuentemente en constructos de CLIPS™ definidos espacialmente. Los constructos que representan varias partes de un epítipo discontinuo en la conformación correcta se unen al anticuerpo con gran afinidad, que se detecta y cuantifica. Los constructos que presentan el epítipo incompleto se unen al anticuerpo con una afinidad menor, mientras que los constructos que no contienen el epítipo no se unen en absoluto. La información de la afinidad se utiliza en pruebas interactivas para definir la secuencia y conformación de los epítipos en detalle.

Primero, se selecciona el dominio de unión adenosina deaminasa (residuos 356 a 522 del SEQ ID NO: 144) de la secuencia de la proteína CD26 humana para análisis exhaustivo. Esta región de CD26 se extendió y separó en dos dominios solapados, de los residuos 260 a 400 y 380 a 538 del SEQ ID NO: 144. Los ensayos de unión competitiva revelaron que CDina26 reconoce un epítipo ubicado cerca del residuo R358 de la CD26 humana (SEQ ID NO: 144).

Segundo, un total de 5833 péptidos solapados de CD26 se sintetizaron y sometieron a prueba para unión específica para CDina26. El análisis de péptidos lineales identificó múltiples regiones que fueron reconocidas específicamente por CDina26. Cuatro regiones de CD26 mostraron una unión significativa:

WWSPNGTFLAYAQ (SEQ ID NO: 148 correspondiente a los residuos 215 a 227 del SEQ ID NO: 144),

QLRCSGPGPLYTLH (SEQ ID NO: 149 correspondiente a los residuos 466 a 483 del SEQ ID NO: 144)

LNETKFWYQMILP (SEQ ID NO: 150 correspondiente a los residuos 519 a 531 del SEQ ID NO: 144)

MGFVDNKRIAIWGSY (SEQ ID NO: 151 correspondiente a los residuos 616 a 631 del SEQ ID NO: 144).

Estas 4 regiones de CD26 parecen estar separadas en una estructura cristalina publicada y, por lo tanto, pueden no formar todas un epítipo discontinuo para CDina26. Además, con base en la estructura cristalina publicada de CD26, 3 de las 4 regiones parecen estar esta casi completamente enterradas dentro de CD26. La excepción es WWSPNGTFLAYAQ (SEQ ID NO: 148), cuya superficie está expuesta al menos los residuos en PNGTF (SEQ ID NO: 152 correspondiente a los residuos 218 a 222 del SEQ ID NO: 144).

Tercero, las tres regiones distintas de la superficie de CD26 se seleccionaron para análisis de los epítipos discontinuos. La Matriz 1 cubre el área catalítica y las regiones N-terminal en las proximidades del área catalítica (correspondiente a los residuos 260 a 400 del SEQ ID NO: 144). La Matriz 2 cubre el área catalítica y las regiones C-terminal en las proximidades del área catalítica que solapa parcialmente la matriz 1 establecida (correspondiente a

los residuos 380 a 538 del SEQ ID NO: 144). Por último, la Matriz 3 cubre un bucle protuberante específico de CD26, que forma una estructura inmunodominante (correspondiente a los residuos 226 a 252 del SEQ ID NO: 144).

5 En comparación con los péptidos lineales, los péptidos discontinuos mostraron señales relativamente más bajas, pero las señales fueron más consistentes. Cuando los resultados obtenidos con todas las tres matrices se pusieron en común, se identificaron las múltiples regiones de unión a CDina26 de CD26.

La Matriz 3, que se centra en un bucle protuberante de CD26 correspondiente a los residuos 226 a 252 del SEQ ID NO: 144, no identificaron ninguna región con unión a CDina26 significativa.

La Matriz 1 (N-terminal de la región de atención correspondiente a los residuos 260 a 400 del SEQ ID NO: 144) produjo 3 regiones de unión a CDina26:

10 DYDESSGRWNCLVAR (SEQ ID NO: 146 correspondiente a los residuos 329 a 343 del SEQ ID NO: 144).

DVTWATQERISLQWL (SEQ ID NO: 147 correspondiente a los residuos 302 a 316 del SEQ ID NO: 144).

TTGWVGRFRPSEPHF (SEQ ID NO: 153 correspondiente a los residuos 350 a 364 del SEQ ID NO: 144).

15 La unión más fuerte se observó para DYDESSGRWNCLVAR (SEQ ID NO: 146). Cuando solo se consideraron los péptidos que comprendían DYDESSGRWNCLVAR (SEQ ID NO: 146), los péptidos con mejor unión fueron aquellos que también comprendían RFRPSEPHF (SEQ ID NO: 154 correspondiente a los residuos 356 a 364 del SEQ ID NO: 144). RFRPSEPHF (SEQ ID NO: 154) incluye el residuo R358 específico mencionado anteriormente. El efecto aditivo específico en la unión fue consistente con el anticuerpo CDina26 que se dirigía a un epítipo discontinuo que incluye DYDESSGRWNCLVAR (SEQ ID NO: 146) y TTGWVGRFRPSEPHF (SEQ ID NO: 153). En otra realización, el epítipo comprende además DVTWATQERISLQWL (SEQ ID NO: 147).

20 La Matriz 2 produjo 4 regiones de unión:

TFITKGTWEVIG (SEQ ID NO: 155 correspondiente a los residuos 395 a 406 del SEQ ID NO: 144)

DYLYYISNE (SEQ ID NO: 156 correspondiente a los residuos 413 a 421 del SEQ ID NO: 144)

SCELNPERCQYY (SEQ ID NO: 157 correspondiente a los residuos 446 a 457 del SEQ ID NO: 144)

SGPGLP (SEQ ID NO: 158 correspondiente a los residuos 473 a 478 del SEQ ID NO: 144).

25 La unión de CDina26 a las regiones de la Matriz 2 fueron más débiles que la unión a DYDESSGRWNCLVAR (SEQ ID NO: 146). Con base en la estructura cristalina de CD26 publicada, las regiones DYLYYISNE (SEQ ID NO: 156) y SGPGLP (SEQ ID NO: 158) parecen ser las más escondidas dentro de la proteína. Las regiones TFITKGTWEVIG (SEQ ID NO: 155) y SAELNPERCQYY (SEQ ID NO: 157) tienen una superficie expuesta y accesible por un anticuerpo.

30 Una comparación visual de la unión de CDina26 a las 7 regiones de unión discontinuas identificadas en CD26, las 7 se muestran en la Figura 12 que exponen la unión media a todos los péptidos discontinuos que contienen una de las secuencias de unión identificadas. Aquí, DYDESSGRWNCLVAR (SEQ ID NO: 146), fue el ligante más fuerte, mientras que DVTWATQERISLQWL (SEQ ID NO: 147) fue ligeramente más fuerte que TTGWVGRFRPSEPHF (SEQ ID NO: 153).

35 La región de unión más fuerte, DYDESSGRWNCLVAR (SEQ ID NO: 146) está prácticamente expuesta en la superficie con base en la estructura cristalina de CD26 publicada. La región TTGWVGRFRPSEPHF (SEQ ID NO: 153) está casi completamente escondida dentro de la proteína. La región DVTWATQERISLQWL (SEQ ID NO: 147) está parcialmente expuesta en la superficie en ATQER (SEQ ID NO: 159 correspondiente a los residuos 306 a 310 del SEQ ID NO: 144) y se ubica adyacente a DYDESSGRWNCLVAR (SEQ ID NO: 146).

40 Los resultados del mapeo de epítopos fueron consistentes con CDina26 que se une específicamente a un epítipo discontinuo de CD26 que comprende DYDESSGRWNCLVAR (SEQ ID NO: 146). En una realización, el epítipo discontinuo comprende además uno o ambos de DVTWATQERISLQWL (SEQ ID NO: 147) y PNGTF (SEQ ID NO: 152). Mientras que PNGTF (SEQ ID NO: 152) se conserva entre CD26 humana y de cerdo, las diferencias de secuencia en otros componentes del epítipo (tales como DYDESSGRWNCLVAR (SEQ ID NO: 146), que no se conserva entre humana y de cerdo) es suficiente para eliminar la unión de CDina26 a la CD26 de cerdo natural. En otra realización, el epítipo comprende además WWSPNGTFLAYAQ (SEQ ID NO: 148).

#### Ejemplo 9

Afinidad de unión de CDina26 a CD26

50 El sistema de resonancia de plasmón superficial (Biacore®) se utilizó para determinar la afinidad de CDina26 para CD26 humana según los protocolos estándar. Las mediciones de afinidad tuvieron lugar a 25 °C, inmovilización en

5 chip de carboximetil dextrano (CM5) 10,000 UR de un anticuerpo anti-IgG2b (GE Healthcare, 22-0648-97 AC). Se preparó CDina26 como reserva en tampón de electroforesis HBS-EP (0,01 M de HEPES, pH 7,4. 0,15 M de NaCl, 3 mM de EDTA, tensioactivo P20 al 0,005%) en una concentración final de 50 µg/ml, y para cada experimento 2,000 UR se inmovilizaron de manera reversible en el chip por medio de inyección con un flujo de 10 µl/min en un periodo de tiempo de 180 segundos.

10 CD26 humana recombinante purificada (rhDipeptidil peptidasa IV, Creative BioMart; n.º de catálogo DPP4-116H) se preparó en una concentración de reserva de  $5,8 \times 10^{-6}$  M. CD26 se inyectó en concentraciones crecientes de  $30 \times 10^{-9}$ ,  $90 \times 10^{-9}$  M,  $270 \times 10^{-9}$  M y  $810 \times 10^{-9}$  M. Las muestras de CD26 se inyectaron con un flujo de 10 µl/minuto; con tampón de HBS-EP utilizado como tampón de electroforesis. Un registro típico incluyó un periodo de inyección de 3 minutos de la CD26 seguido de un periodo de disociación de 8 minutos. Los datos de unión sin procesar se analizaron según los métodos estándar. El chip CM5 con el anticuerpo anti-IgG2b inmovilizado se regeneró por medio de inyección de 10 mM de glicina-HCl pH 1,7 con un flujo de inyección de 20 µl/min y durante un periodo de tiempo de 60 segundos.

15 Los resultados de las mediciones de afinidad para CDina26 se muestran a continuación. Los autores de presente solicitud creen que el CDina26 posee propiedades de unión superiores en comparación con los anticuerpos de la técnica anterior y, por lo tanto, representa una mejora significativa sobre la técnica anterior.

Ligando CM5	Ligando Anti-IgG2b	Analito	$K_{on}$ (1/Ms)	$K_{off}$ (1/s)	$K_D$ (M)
Anti-IgG2b	CDina26	CD26 humana	2,63 E+04	1,32E-04	5,02e-09

## BIBLIOGRAFÍA

- Akpek G, Boitnott JK, Lee LA, et al. *Hepatitis variant of graft versus host disease after donor lymphocyte infusion. Blood* 2002; 100: 3903-3907.
- Altschul et al., 1996, *Methods in Enzymology* 266:460-480.
- 5 Andris-Widhopf et al. (2000), *Phage Display Laboratory Manual, 1st edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press*, pp. 9.1-9.22.
- Anke Franzke, Robert Geffers, J Katrin Hunger, Susanne Pfortner, Wenji Piao, Philipp Ivanyi, Jens Grosse, Michael Probst-Kepper, Arnold Ganser y Jan Buer. *Identification of novel regulators in T-cell differentiation of aplastic anemia patients. BMC Genomics* 2006, 7:263
- 10 Ausubel et al., ed., 1994, *Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1*, John Wiley e hijos, Inc., Nueva York.
- Aytac et al. (2003) *British Journal of Cancer* 88:455-462.
- Bacigalupo A, Passweg J. *Diagnosis and treatment of acquired aplastic anemia. Hematol Oncol Clin North Am.* 2009; 23: 159-70.
- 15 Baines et al., "Purification of Immunoglobulin G (IgG)," in *METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY*, VOL. 10, páginas 79-104 (The Humana Press, Inc. 1992).
- Bird RE y Walker BW, "Single Chain Antibody Variable Regions," TIBTECH, Vol 9: 132-137 (1991).
- Boerner et al., 1991, *J. Immunol.*, 147 (1):86-95.
- Brekke y Loset, 2003, *Curr. Opin. Pharmacol.* 3:544-50.
- 20 Broxmeyer, H. E. (2006). *Umbilical Cord Blood Stem Cells: Collection, Processing, and Transplantation. Blood Banking and Transfusion Medicine: Basic Principles and Practice*. C. D. Hillyer, Silberstein, L.E., Ness, P.M., Anderson, K.C., y Roback, J., Churchill Livingstone, un sello editorial de Elsevier, Inc.: 823-832.
- Broxmeyer, H. E., G. Hangoc, S. Cooper, T. Campbell, S. Ito y C. Mantel (2007). *AMD3100 and CD26 modulate mobilization, engraftment, and survival of hematopoietic stem and progenitor cells mediated by the SDF-1/CXCL12-CXCR4 axis. Ann N Y Acad Sci* 1106: 1-19. Epub 2007 Marzo 14. PubMed PMID: 17360804.
- 25 Brummell et al., *Biochem.* 32: 1180-1 187 (1993).
- Burks et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:412-417 (1997).
- Busso N, Wagtmann N, Herling C et al. *Circulating CD26 is negatively associated with inflammation in human and experimental arthritis. Am J Pathol* 2005; 166: 433-442.
- 30 Campbell TB, Broxmeyer HE. *CD26 inhibition and hematopoiesis: a novel approach to enhance transplantation. Front Biosci.* 2008 Enero 1;13:1795-805. Revisión PubMed PMID: 17981668.
- Campbell TB, Hangoc G, Liu Y, Pollok K, Broxmeyer HE. *Inhibition of CD26 in human cord blood CD34+ cells enhances their engraftment of nonobese diabetic/severe combined immunodeficiency mice. Stem Cells Dev.* 2007 Junio;16(3):347-54. PubMed PMID: 17610364.
- Carter et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 89: 4285 (1992).
- 35 Charo IF, Peters W. *Chemokine receptor 2 (CCR2) in atherosclerosis, infectious diseases, and regulation of T-cell polarization. Microcirculation* 2003, 10(3-4):259-264.
- Chothia et al., *J. Mol. Biol.* 1987, 196(4):901-17).
- 40 Christopherson KW 2nd, Hangoc G, Broxmeyer HE. *Cell surface peptidase CD26/dipeptidylpeptidase IV regulates CXCL12/stromal cell-derived factor-1 alpha-mediated chemotaxis of human cord blood CD34+ progenitor cells. J Immunol.* 2002 Diciembre 15;169(12):7000-8. PubMed PMID: 12471135.
- Christopherson KW 2nd, Cooper S, Broxmeyer HE. *Cell surface peptidase CD26/DPPIV mediates G-CSF mobilization of mouse progenitor cells. Blood.* 2003 Junio 15;101(12):4680-6. Epub 2003 Febrero 6. PubMed PMID: 12576320.
- 45 Christopherson KW, Cooper S, Hangoc G, Broxmeyer HE. *CD26 is essential for normal G-CSF-induced progenitor cell mobilization as determined by CD26-/- mice. Exp Hematol.* 2003 Noviembre;31(11):1126-34. PubMed PMID: 14585379.

- Christopherson KW II, Hangoc G, Mantel CR, Broxmeyer HE. *Modulation of haematopoietic stem cell homing and engraftment by CD26*. *Science* 2004; 305: 1000-1003. PubMed PMID: 15310902.
- Christopherson II, K. W., L. A. Paganessi, S. Napier y N. K. Porecha (2007). *CD26 Inhibition on CD34(+) or Lineage() Human Umbilical Cord Blood Donor Hematopoietic Stem Cells/Hematopoietic Progenitor Cells Improves Long-Term Engraftment into NOD/SCID/Beta2(null) Immunodeficient Mice*. *Stem Cells Dev* 16(3): 355-60.
- 5 Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985);
- Coligan *et al.* Eds. (1991) *Current protocols in immunology*, John Wiley e hijos, v. 1, pp. 2.5.1-2.6.7, 2.7.1-2.7.12, 2.8.1-2.8.10, 2.9.1-2.9.3 y 2.10.-2.10.4.
- Conrad y Scheller, 2005, *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 8:117-26.
- 10 Cossins *et al.* (2006), *Prot Express Purif* 51: 253-259.
- Dang NH, Morimoto C. *CD26: An expanding role in immune regulation and cancer*. *Histol Histopathol* 2002, 17(4):1213-1226.
- Dantas-Barbosa *et al.*, 2005, *Genet. Mol. Res.* 4:126-40.
- Dong *et al.* (1998), "Correlation of the Epitopes Defined by Anti-CD26 mAbs and CD26 Function", *Molecular Immunology* 35(1):13-21.
- 15 Dong *et al.* (1996) *J Immunol.* 156(4):1349-55.
- Drucker DJ. *Dipeptidyl peptidase-4 inhibition and the treatment of type 2 diabetes*. *Diabetes Care* 2007; 30: 1335-1341.
- DuBois D; DuBois E F., *Arch Int Med* 1916 17:863-71.
- 20 Durinx C, Lambeir AM, Bosmans E *et al.* *Molecular characterization of dipeptidylpeptidase activity in serum: soluble CD26/dipeptidylpeptidase IV is responsible for the release of X-Pro dipeptides*. *Eur J Biochem* 2000;267:5608-5613.
- Edelman *et al.* (1967) *in Methods in enzymology*, v. 1, p. 422.
- Ferrara JLM, Levine JE, Reddy P y Holler E. *Graft-versus-Host Disease*. *Lancet* 2009; 373: 1550-1561.
- Fleischer B, Sturm E, De-Vries JE, Spits H. *Triggering of cytotoxic T lymphocytes and NK cells via the Tp103 pathway is dependent on the expression of the T cell receptor/CD3 complex*. *J Immunol* 1988, 141:1103-1107.
- 25 Fleischer (1987) *J. Immunol.* 138, 1346-1350. Fleischer (1994) *Immunol. Today* 15:180-184.
- Fox *et al.* (1984) *J. Immunol.* 133, 1250-1256.
- Fraticeilli P, Sironi M, Bianchi G, D'Ambrosio D, Albanesi C, Stoppacciaro A, Chieppa M, Allavena P, Ruco L, Girolomoni G, Sinigaglia F, Vecchi A, Mantovani A. *Fractalkine (CX3CL1) as an amplification circuits of polarized Th1 responses*. *J Clin Invest* 2001, 107(9):1173-1181.
- 30 Freshney RI, ed. (1987) *Culture of Animal Cells*, AR Liss Inc.
- Gait MJ, ed. (1984) *Oligonucleotide Synthesis*.
- Glucksberg H, Storb R, Fefer A, *et al.* *Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-Matched sibling donors*. *Transplantation* 1974; 18: 295-304.
- 35 Green *et al.*, *Nature Genet.* 7:13 (1994).
- Green *et al.*, 1999, *J. Immunol. Methods* 231:11-23.
- Guo Y, Hangoc G, Bian H, Pelus LM, Broxmeyer HE. *SDF-1/CXCL12 enhances survival and chemotaxis of murine embryonic stem cells and production of primitive and definitive hematopoietic progenitor cells*. *Stem Cells.* 2005 Octubre;23(9):1324-32. Errata en: *Stem Cells.* 2006 Enero;24(1):211. PubMed PMID: 16210409.
- 40 Hames BD *et al.* (1984) *Nucleic Acid Hybridization*.
- Hegen *et al.* (1990) *J. Immunol.* 144, 2908-2914.
- Hogan B (1986) *Manipulating the Mouse Embryo*, Cold Spring Harbor Laboratory.
- Hollinger *et al.*, 1993, *Proc. Natl. Acad Sci. USA* 90: 6444-6448.

- Hopsu-Havu y Glenner, 1966, *Histochemie*; 7: 197-201
- Huse *et al.* (*Science* 1989, 246:1274-1281).
- Inhibition of CD26 preserves pancreatic islet transplants through a pathway involving modulation of splenic CD4(+) T-cell migration in mice. Diabetes* 2010; 59(7):1739-50
- 5 *Inhibition of CD26 down regulates activated T cells and prevents lung graft rejection in rats. J Heart Lung Transplant* 2006; 25(9):1109-16
- Inhibition of CD26 suppresses autoimmune encephalomyelitis (EAE) in mice. J Immunol* 2001; 166(3): 2041-8
- Jacobsohn DA y Vogelsang GB. *Acute graft versus host disease. Orphanet Journal of Rare Diseases* 2007; 2: 35-44.
- 10 Jee Y, Yoon WK, Okura Y, Tanuma N, Matsumoto Y. *Upregulation of monocyte chemotactic protein-1 and CC chemokine receptor 2 in the central nervous system is closely associated with relapse of autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats. J Neuroimmunol* 2002, 128(1-2):49-57.
- Jellinek *et al.*, 1995, *Biochem.* 34:11363-11372.
- Johnson y Chiswell, 1993, *Current Opinion in Structural Biology* 3:5564-571.
- Jones *et al.*, *Nature* 321: 522 (1986).
- 15 Kabat *et al.* (1991), *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5. ed., Washington, D.C., *Public Health Service*, N.I.H.
- Kahne T, Lendeckel U, Wrenger S *et al.* *Dipeptidyl peptidase IV: a cell surface peptidase involved in regulating T cell growth* (revisión). *Int J Mol Med* 1999; 4: 3-15.
- Kameoka *et al.* (1993) *Science.* 261(5120):466-9.
- 20 Kawai, T., U. Choi, P. C. Liu, N. L. Whiting-Theobald, G. F. Linton y H. L. Malech (2007). *Diprotin A Infusion into Nonobese Diabetic/Severe Combined Immunodeficiency Mice Markedly Enhances Engraftment of Human Mobilized CD34(+) Peripheral Blood Cells. Stem Cells Dev* 16(3): 361-370.
- Kobayashi *et al.*, *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999).
- Kobayashi *et al.*, *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999).
- 25 Kohler y Milstein, *Nature* 256: 495 (1975).
- Kostelny *et al.*, 1992, *J. Immunol.* 148: 1547-1553.
- Leung *et al.*, *Hybridoma* 13:469 (1994).
- Lewis, I. D. (2002). *Clinical and experimental uses of umbilical cord blood. Intern Med J* 32(12): 601-9.
- Lin *et al.*, 1994, *Nucl. Acids Res.* 22:5220-5234.
- 30 Lock C, Hermans G, Pedotti R, Brendolan A, Schadt E, Garren H, Langer-Gould A, Strober S, Cannella B, Allard J, Klonowski P, Austin A, Lad N, Kaminski N, Galli SJ, Oksenberg JR, Raine CS, Heller R, Steinman L. *Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis. Nat Med* 2002, 8(5):500-508.
- Lonberg *et al.*, *Nature* 1994 368:856.
- 35 Maciejewski JP, Selleri C, Anderson S, Young NS. *Fas antigen expression on CD34+ human marrow cells is induced by interferon gamma and tumor necrosis factor alpha and potentiates cytokine mediated hematopoietic suppression in vitro. Blood* 1995, 85:3183-3190.
- Maciejewski JP, Selleri C, Sato T, Anderson S, Young NS. *Increased expression of Fas antigen on bone marrow CD34+ cells of patients with aplastic anemia. Br J Haematol* 1995, 91:245-252.
- 40 Mancini *et al.*, 2004, *New Microbiol.* 27:315-28.
- Marks *et al.*, 1991, *J. Mol. Biol.* 222:581-97.
- Marks, J. D., *et al.*, 1992, *J. Biol. Chem.* 267: 16007
- Mayer y Walker, eds. (1987), *Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology.*

- McCafferty *et al.*, 1990, *Nature* 348:552-553.
- Menthlein, 1999, *Regulatory Peptides*; 85: 9-24
- Miller JH y Calos MP, eds. (1987) *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells*, Cold Spring Harbor Laboratory
- Morimoto *et al.* (1989) *J. Immunol.* 143, 3430-3439.
- 5 Morimoto *et al.* (1994) *Immunologist* 2: 4-7.
- Morrison *et al.* (1993) *J Exp Med.* 177(4):1135-43).
- Mosteller R D., *N Engl J Med* 1987 Octubre 22; 317(17):1098.
- Nakao S, Takami A, Takamatsu H, Zeng W, Sugimori N, Yamazaki H, Miura Y, Ueda M, Shiobara S, Yoshioka T, Kaneshige T, Yasukawa M, Matsuda T. *Isolation of a T cell clone showing HLADRB1\* 0405-restricted cytotoxicity for hematopoietic cells in a patient with aplastic anemia. Blood* 1997, 89:3691-3699.
- 10 Nisonoff *et al.*, *Arch Biochem. Biophys.* 89: 230 (1960).
- Orlandi *et al.*, 1989, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86: 3833.
- Pagratis *et al.*, 1997, *Nature Biotechnol.* 15:68-73.
- Pasqualini y Ruoslahti, 1996, *Nature* 380:364-366.
- 15 Pasqualini, 1999, *The Quart. J. Nucl. Med.* 43:159-162.
- Perbal B (1984) *A Practical Guide to Molecular Cloning*, John Wiley e hijos Inc.
- Peranteau WH, Endo M, Adibe OO *et al.* *CD26 inhibition enhances allogeneic donor-cell homing and engraftment after in utero hematopoietic-cell transplantation. Blood* 2006; 108: 4268-4274.
- Porter, *Biochem. J.* 73: 119 (1959).
- 20 Raag R y Whitlow M, "Single Chain Fvs." *FASEB Vol* 9:73-80 (1995)
- Riechmann *et al.*, 1988, *Nature* 332: 323.
- Risitano AM, Kook H, Zeng W, Chen G, Young NS, Maciejewski JP. *Oligoclonal and polyclonal CD4 and CD8 lymphocytes in aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria measured by V beta CDR3 spectratyping and flow cytometry. Blood* 2002, 100(1):178-183.
- 25 Roig MG (1986) *Immobilized Cells and Enzymes*, IRL Press.
- Sambrook *et al.*, eds. (1989) *Molecular Cloning : A Laboratory Manual*, 2. ed.
- Sandhu, 1992, *Crit. Rev. Biotech.* 12: 437.
- Shier, R. *et al.*, 1996, *Gene* 169: 147
- Singer *et al.*, 1993, *J. Immun.* 150: 2844.
- 30 Songsivilai *et al.*, 1990, *Clin. Exp. Immunol.* 79: 315-321.
- Sun Y, Tawara I, Tubai T, y Reddy P. *Pathophysiology of Acute Graft-vs-Host Disease: Recent Advances. Transl Res.* 2007; 150: 197-214.
- Taylor *et al.*, *Int. Immun.* 1994 6:579.
- Tempest *et al.*, 1991, *Biotechnology* 9:266.
- 35 Tian, C., J. Bagley, D. Forman y J. Iacomini (2006). "Inhibition of CD26 peptidase activity significantly improves engraftment of retrovirally transduced hematopoietic progenitors." *Gene Ther* 13(7): 652-8.
- Timmerman *et al.*, 2007, *J. Mol. Recognit.* 20: 283-290
- Ulmer *et al.* (1990) *J. Immunol.* 31, 429-435.
- 40 US 2010/0196266 A1, EP 404 097, WO 93/11161, Goldenberg, Patente estadounidense N° 4,036,945 y 4,331,647, US 4,704,692, US 4,946,778, US 5,545,807, US 5,545,806, US 5,633,425, US 5,661,016, US

5,567,610, US 5,229,275, EP 1 241 179 B1, US 4,683,195 (Mullis *et al.*), US 7,863,239, US 7,972,993, US 7,982,013 B2.

Vanham G, Kestens L, Demeester I *et al.* *Decreased expression of the memory marker CD26 on both CD4+ and CD8+ T lymphocytes of HIV infected subjects.* *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993; 6: 749-757.

5 Verhoeyen *et al.*, 1988, *Science* 239: 1534.

Weir DM y Blackwell CC, eds. (1986) *Handbook of Experiment Immunology*, vv. I-IV

Willheim M, Ebner C, Baier K, Kern W, Schratlbauer K, Thien R, Kraft D, Breiteneder H, Reinisch W, Scheiner O. *Cell surface characterization of T lymphocytes and allergen-specific T cell clones - correlation of CD26 expression with Th1 subsets.* *J Allergy Clin Immunol* 1997, 100:348-255.

10 Wu (1986) en *Methods in enzymology*, v. 154, prólogo.

Wu (1987) en *Methods in enzymology*, v. 155, prólogo.

Young NS, Maciejewski JP. *The pathophysiology of acquired aplastic anemia.* *N Eng J Med* 1997, 336:1365-1372.

15 Zeng W, Nakao S, Takamatsu H, Yachie A, Takami A, Kondo Y, Sugimori N, Yamazaki H, Miura Y, Shiobara S, Matsuda T. *Characterization of T-cell repertoire of the bone marrow in immunemediated aplastic anemia: Evidence for the involvement of antigen-driven T-cell response in cyclosporine-dependent aplastic anemia.* *Blood* 1999, 93(9):3008-3016.

Zeng W, Maciejewski JP, Chen G, Young NS. *Limited heterogeneity of T cell receptor BV usage in aplastic anemia.* *J Clin Invest* 2001, 108(5):765-773.

**LISTA DE SECUENCIAS**

- <110> ADIENNE Sr<sub>1</sub>
- 5 <120> Anticuerpos anti-CD 26 y usos de los mismos  
 <130> 6459-X-2972 EP
- <150> EP13425029  
 <151> 19-02-2013
- 10 <160> 159  
 <170> PatentIn versión 3.5
- 15 <210> 1  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial
- 20 <220>  
 <223> Cadena pesada de CDR-H3
- <400> 1  
 Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val  
 1 5 10
- 25 <210> 2  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial
- 30 <220>  
 <223> Cadena ligera de CDR-L3 grupo 1
- <400> 2  
 Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
 1 5
- 35 <210> 3  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial
- 40 <220>  
 <223> Cadena ligera de CDR-L3 grupo 3
- 45 <400> 3  
 Gly Gln Gly Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr  
 1 5
- <210> 4  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial
- 50 <220>  
 <223> VL prevalente grupo 1
- 55 <400> 4  
 Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

ES 2 738 283 T3

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
 20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
 35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
 85 90 95

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

<210> 5  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>  
 <223> VL grupo 3

10

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

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

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

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

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

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr His Cys Gly Gln Gly Tyr Ser Tyr Pro Tyr  
 85 90 95

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

<210> 6  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>  
 <223> VL grupo 1

20

<400> 6

ES 2 738 283 T3

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
85 90 95

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

<210> 7  
<211> 107  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
10 <223> VL grupo 1

<400> 7  
Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
85 90 95

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

<210> 8  
15 <211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
20 <223> VL grupo 1

<400> 8

ES 2 738 283 T3

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
85 90 95

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

<210> 9  
<211> 107  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
10 <223> VL grupo 1

<400> 9  
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
85 90 95

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

15 <210> 10  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

20 <220>  
<223> VL grupo 1

<400> 10

ES 2 738 283 T3

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
85 90 95

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

<210> 11  
<211> 107  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
10 <223> VL grupo 1

<400> 11  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
35 40 45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Cys Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
85 90 95

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

15 <210> 12  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

20 <220>  
<223> VL grupo 1

<400> 12

ES 2 738 283 T3

Asp Ile Lys Ile Asn Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
85 90 95

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

- 5 <210> 13
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> VL grupo 1

<400> 13  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
85 90 95

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

- 15 <210> 14
- <211> 107
- <212> PRT
- 20 <213> Secuencia Artificial

- <220>
- <223> VL grupo 1

- 25 <400> 14

ES 2 738 283 T3

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
85 90 95

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

- 5 <210> 15
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> VL grupo 1

<400> 15  
Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
85 90 95

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

- 15 <210> 16
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 20 <220>
- <223> VL grupo 1

<400> 16

ES 2 738 283 T3

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
85 90 95

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

- 5 <210> 17
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> VL grupo 1

<400> 17  
Asp Ile Leu Met Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
85 90 95

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

- 15 <210> 18
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 20 <220>
- <223> VL grupo 1

- 25 <220>
- <221> característica miscelánea

ES 2 738 283 T3

<222> (4)..(4)  
 <223> Ile o Met

<400> 18  
 Asp Ile Leu Xaa Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
 20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
 35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
 85 90 95

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

10 <210> 19  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>  
 <223> VL grupo 1

<400> 19  
 Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
 20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
 35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
 85 90 95

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

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

25

ES 2 738 283 T3

<220>

<223> VL grupo 1

<400> 20

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

5 Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
85 90 95

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

<210> 21

10 <211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> VL grupo 1

<400> 21

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr  
35 40 45

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

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

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn Thr  
85 90 95

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

20

<210> 22

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

25

ES 2 738 283 T3

<220>

<223> VH grupo 1

<400> 22

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

<210> 23

10 <211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> VH grupo 1

<400> 23

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

ES 2 738 283 T3

5 <210> 24  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 24  
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Ser Tyr  
 20 25 30  
 Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Gln Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
 100 105 110  
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

15 <210> 25  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 25  
 Glu Val Gln Gly Val Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Ser Tyr  
 20 25 30  
 Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60

ES 2 738 283 T3

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

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

Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

5 <210> 26  
<211> 120  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

10 <220>  
<223> VH grupo 1

<400> 26  
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

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

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

15 <210> 27  
<211> 120  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

20 <220>  
<223> VH grupo 1

<400> 27

ES 2 738 283 T3

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

5 <210> 28  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 28  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Ser Tyr  
 20 25 30  
 Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Gln Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
 100 105 110  
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

15 <210> 29  
 <211> 120

ES 2 738 283 T3

<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

5 <220>  
<223> VH grupo 1

<400> 29  
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Ser Tyr  
20 25 30  
Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45  
Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60  
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80  
Met Gln Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
85 90 95  
Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
100 105 110  
Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser  
115 120

10 <210> 30  
<211> 120  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

15 <220>  
<223> VH grupo 1

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

20

ES 2 738 283 T3

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

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

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

Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

- 5 <210> 31
- <211> 120
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> VH grupo 1

<400> 31  
Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

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

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

- 15 <210> 32
- <211> 120
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 20 <220>
- <223> VH grupo 1

ES 2 738 283 T3

<400> 32

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

<210> 33

5 <211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> VH grupo 1

<400> 33

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

15

ES 2 738 283 T3

<210> 34  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia Artificial  
  
 <220>  
 <223> VH grupo 1  
  
 10 <400> 34  
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Ser Tyr  
 20 25 30  
  
 Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
  
 Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
  
 Met Gln Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
 85 90 95  
  
 Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
 100 105 110  
  
 Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

15 <210> 35  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>  
 <223> VH grupo 1

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

ES 2 738 283 T3

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

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

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

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

Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

- 5 <210> 36
- <211> 120
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> VH grupo 1

<400> 36  
 Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

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

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

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

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

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

Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

- 15 <210> 37
- <211> 120
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 20 <220>
- <223> VH grupo 1

- 25 <220>
- <221> característica miscelánea

ES 2 738 283 T3

<222> (3)..(3)  
 <223> Leu o Glu

<400> 37

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

<210> 38

<211> 120

10 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> VH grupo 1

<400> 38

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

ES 2 738 283 T3

<210> 39  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia Artificial  
  
 <220>  
 <223> VH grupo 1  
  
 10 <400> 39  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Ser Tyr  
 20 25 30  
  
 Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
  
 Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
  
 Met Gln Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
 85 90 95  
  
 Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
 100 105 110  
  
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120  
  
 15 <210> 40  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
  
 <220>  
 20 <223> VH grupo 1  
  
 <400> 40

ES 2 738 283 T3

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

5 <210> 41  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 41  
 Glu Val Gln Leu His Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Ser Tyr  
 20 25 30  
 Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Gln Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
 100 105 110  
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

15 <210> 42  
 <211> 120

ES 2 738 283 T3

<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

5 <220>  
<223> VH grupo 1

<400> 42  
Glu Val Lys Leu Met Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Ser Tyr  
20 25 30  
Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45  
Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60  
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80  
Met Gln Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
85 90 95  
Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
100 105 110  
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

10 <210> 43  
<211> 120  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

15 <220>  
<223> VH grupo 1

20 <220>  
<221> característica miscelánea  
<222> (1)..(1)  
<223> Glu, Gln o Lys

25 <220>  
<221> característica miscelánea  
<222> (6)..(6)  
<223> Glu, Gln o Lys

<400> 43

ES 2 738 283 T3

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

5 <210> 44  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 44  
 Glu Val Lys Val Val Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Ser Tyr  
 20 25 30  
 Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Gln Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
 100 105 110  
 Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

15 <210> 45  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 20 <213> Secuencia Artificial

ES 2 738 283 T3

<220>

<223> VH grupo 1

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

<210> 46

10 <211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> VH grupo 1

<220>

<221> característica miscelánea

<222> (113)..(113)

20 <223> Arg o Trp

<400> 46

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Arg Ser Tyr  
 20 25 30

ES 2 738 283 T3

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

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

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

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

Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
 100 105 110

Xaa Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

- 5 <210> 47
- <211> 120
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> VH grupo 1

<400> 47  
 Glu Val Gln Arg Val Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

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

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

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

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

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

Ala Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala  
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

- 15 <210> 48
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 20 <220>
- <223> CL

ES 2 738 283 T3

<400> 48

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

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

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg  
35 40 45

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
50 55 60

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

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

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys  
100 105

- 5 <210> 49
- <211> 336
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial

- 10 <220>
- <223> CH1-CH2-CH3

<400> 49

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

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

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

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

Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val  
65 70 75 80

Thr Cys Ser Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Thr Val Asp Lys Lys  
85 90 95

ES 2 738 283 T3

Leu Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile Asn Pro Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

Lys Glu Cys His Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Glu Gly Gly Pro Ser  
 115 120 125

Val Phe Ile Phe Pro Pro Asn Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu  
 130 135 140

Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro  
 145 150 155 160

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala  
 165 170 175

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

Ser Thr Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe  
 195 200 205

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

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Leu Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Ile Leu  
 225 230 235 240

Pro Pro Pro Ala Glu Gln Leu Ser Arg Lys Asp Val Ser Leu Thr Cys  
 245 250 255

Leu Val Val Gly Phe Asn Pro Gly Asp Ile Ser Val Glu Trp Thr Ser  
 260 265 270

Asn Gly His Thr Glu Glu Asn Tyr Lys Asp Thr Ala Pro Val Leu Asp  
 275 280 285

Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr Ser Lys Leu Asn Met Lys Thr Ser  
 290 295 300

Lys Trp Glu Lys Thr Asp Ser Phe Ser Cys Asn Val Arg His Glu Gly  
 305 310 315 320

Leu Lys Asn Tyr Tyr Leu Lys Lys Thr Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys  
 325 330 335

- <210> 50
- 5 <211> 318
- <212> ADN
- <213> Secuencia Artificial
- <220>
- 10 <223> VL prevalente grupo 1
- <400> 50

ES 2 738 283 T3

	caaatgttc tcaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtgcca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgtgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctgg aaataaaa	318
5	<210> 51 <211> 324 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VL grupo 3	
	<400> 51 gacattgtaa tgaccaatc tcccaaatcc atgtccatgt cagtaggaga gagggtcacc	60
	ttgacctgca aggccagtga gaatgtggtt acttatgttt cctggtatca acagaaacca	120
	gagcagtctc ctaaactgct gatatacggg gcatccaacc ggtacactgg ggtccccgat	180
	cgcttcacag gcagtgatc tgcaacagat ttcactctga ccatcagcag tgtgcaggct	240
	gaagaccttg cagattatca ctgtggacag ggttacagct atccgtacac gttcggaggg	300
	gggaccaagc tggaaataaa acgt	324
15	<210> 52 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 52 gatattgtgc tgaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtgcca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgtgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
25	accaagctgg agctgaaacg t	321
30	<210> 53 <211> 320 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 53 gacattgagc tcaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60

ES 2 738 283 T3

	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctgg aaataaacgt	320
5	<210> 54 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 54 gatattgtgt tgacacagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctgg aaataaacg t	321
15	<210> 55 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 55 gacattgtgc tgacacagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
25	accaagctgg aaatcaaacg t	321
30	<210> 56 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 56 gacattgtga tgacgcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120

ES 2 738 283 T3

	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctcg agatcaaacg t	321
5	<210> 57 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 57 gacattgtga tgaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaagtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctgg aaataaacg t	321
15	<210> 58 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 58 gatattgtga tgactcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaagtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
25	accaagctgg aaataaacg t	321
30	<210> 59 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 59 gacattgtga tgaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaagtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240

ES 2 738 283 T3

	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctcg agatcaaacg t	321
5	<210> 60 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 60 gatattgtga tgaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctgg aaataaacg t	321
15	<210> 61 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 61 gatattgtga tgaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
25	accaagctcg agatcaaacg t	321
30	<210> 62 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 62 gatattgtga tgaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctgg agatcaaacg t	321

ES 2 738 283 T3

	<210> 63		
	<211> 321		
	<212> ADN		
5	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> VL grupo 1		
10	<400> 63		
	gacattgtga tgacgcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60	
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120	
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180	
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240	
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300	
	accaagctgg agctgaaacg t	321	
	<210> 64		
15	<211> 321		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
20	<223> VL grupo 1		
	<400> 64		
	gacattgtga tgaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60	
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120	
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180	
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240	
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300	
	accaagctgg agctgaaacg t	321	
25	<210> 65		
	<211> 321		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
30	<220>		
	<223> VL grupo 1		
	<400> 65		
	gatattgtga tgacgcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60	
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120	
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180	
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240	
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300	
	accaagctgg agctgaaacg t	321	
35	<210> 66		
	<211> 321		
	<212> ADN		
40	<213> Secuencia Artificial		

ES 2 738 283 T3

<220>  
 <223> VL grupo 1

<400> 66  
 gatattgtga tgacacagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60  
 ataacctgca gtgccagctc aagtgtgaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc 120  
 acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc 180  
 ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa 240  
 gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg 300  
 5 accaagctgg agctgaaacg t 321

<210> 67  
 <211> 321  
 10 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> VL grupo 1

15 <400> 67  
 gacattcaga tgactcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60  
 ataacctgca gtgccagctc aagtgtgaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc 120  
 acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgcttgc 180  
 ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa 240  
 gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg 300  
 accaagctcg agatcaaacg t 321

20 <210> 68  
 <211> 321  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>  
 <223> VL grupo 1

<400> 68  
 gatattaaga taaaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60  
 ataacctgca gtgccagctc aagtgtgaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc 120  
 acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc 180  
 ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa 240  
 gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg 300  
 30 accaagctcg agatcaaacg t 321

<210> 69  
 <211> 321  
 <212> ADN  
 35 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> VL grupo 1

40 <400> 69

ES 2 738 283 T3

	gatattcaga tgaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctcg agatcaaacg t	321
5	<210> 70 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 70 gacattcaga tgattcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctcg agatcaaacg t	321
15	<210> 71 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 71 gatattttgc tcaactcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
25	accaagctgg aaataaaacg t	321
30	<210> 72 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> VL grupo 1  <400> 72	

ES 2 738 283 T3

	gatatccagc tgactcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctgg aatcaaacg t	321
5	<210> 73 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 73 gatattttga tgaccaatc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctcg agatcaaacg t	321
15	<210> 74 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> VL grupo 1	
25	<220> <221> característica miscelánea <222> (12)..(12) <223> a, t, g o c	
30	<400> 74 gatattctga tnaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgctgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctgg agctgaaacg t	321
35	<210> 75 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
40	<220> <223> VL grupo 1  <400> 75	

ES 2 738 283 T3

	gatgttttga tgaccagtc tccggcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgtgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctcg agatcaaacg t	321
5	<210> 76 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 76 gatattgtga tgacacagac tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgtgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
	accaagctcg agatcaaacg t	321
15	<210> 77 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> VL grupo 1	
	<400> 77 gatgttttga tgactcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc	60
	ataacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgaact ggttccagca gaagccaggc	120
	acttctccca aactctggat ttatagcacc tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc	180
	ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcacia tcagccgaat ggaggctgaa	240
	gatgtgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cgaacacgtt cggagggggg	300
25	accaagctgg agctgaaacg t	321
30	<210> 78 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> VH grupo 1  <400> 78	

ES 2 738 283 T3

	gaggatgaagc tgcaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg ctctctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca	360
5	<210> 79 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 79 gaggatcaaac tgcaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg ctctctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca	360
15	<210> 80 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 80 gaggatgaagc tgcaggagtc aggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg ctctctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
25	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca	360
30	<210> 81 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> VH grupo 1	
	<220> <221> característica miscelánea <222> (6)..(6) <223> a, t, g o c	
40	<400> 81	

ES 2 738 283 T3

gaggtnaagc ttcaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
 tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
 cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
 aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
 atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
 gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca 360

5 <210> 82  
 <211> 360  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 82  
 gaggtnaagc ttcaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
 tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
 cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
 aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
 atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
 gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca 360

15 <210> 83  
 <211> 360  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 83  
 gaggtnaagc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
 tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
 cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
 aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
 atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
 25 gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca 360

30 <210> 84  
 <211> 360  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 84

ES 2 738 283 T3

gaagtgaagc tggaggagtc aggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
 tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
 cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
 aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
 atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
 gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca 360

5 <210> 85  
 <211> 360  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 85  
 gaagtgaagt tggaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
 tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
 cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
 aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
 atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
 gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca 360

15 <210> 86  
 <211> 360  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 86  
 gagtgaagt tggaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
 tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
 cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
 aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
 atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
 25 gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca 360

30 <210> 87  
 <211> 360  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 87

ES 2 738 283 T3

	gagggtgcaac tgcagcagtc aggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca	360
	<210> 88	
5	<211> 360	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
10	<223> VH grupo 1	
	<400> 88	
	gagggtccagc tgcagcagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca	360
	<210> 89	
	<211> 360	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
20	<223> VH grupo 1	
	<400> 89	
	gagggtccagc tgcaacagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
25	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca	360
	<210> 90	
	<211> 360	
30	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
35	<223> VH grupo 1	
	<400> 90	
	gagggtgcagc tgcagcagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120

ES 2 738 283 T3

	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg atttttcctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca	360
5	<210> 91 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 91 gaggtccagc tccagcagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg atttttcctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca	360
15	<210> 92 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 92 gaggtgcagg gggaggatc aggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg atttttcctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
25	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca	360
30	<210> 93 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 93 gaggtgcagg gggaggatc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg atttttcctg gagatggtag tactaagtac	180

ES 2 738 283 T3

	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggga ccacggtcac cgtctcctca	360
5	<210> 94 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 94 cagggtccagc tgcagcagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggga ccacggtcac cgtctcctca	360
15	<210> 95 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 95 cagggtccagc ttcagcagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
25	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggga ccacggtcac cgtctcctca	360
30	<210> 96 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 96 cagggtccaac tgcagcagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggga ccacggtcac cgtctcctca	360

ES 2 738 283 T3

5 <210> 97  
 <211> 360  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 97  
 caggttcagc tgcagcagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
 tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
 cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
 aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
 atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
 gtagtaggcc cagggctactt cgatgtctgg ggcgcagggga ccacgggtcac cgtctcctca 360

15 <210> 98  
 <211> 360  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 98  
 caggttcagc ttcagcaatc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
 tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
 cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
 aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
 atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
 gtagtaggcc cagggctactt cgatgtctgg ggcgcagggga ccacgggtcac cgtctcctca 360

25

30 <210> 99  
 <211> 360  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> VH grupo 1

35 <400> 99  
 gaggtgcagc ttcaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
 tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
 cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
 aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
 atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
 gtagtaggcc cagggctactt cgatgtctgg ggcgcagggga ccacgggtcac cgtctcctca 360

40 <210> 100  
 <211> 360  
 <212> ADN

ES 2 738 283 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>  
<223> VH grupo 1

5 <400> 100  
gaggtacagc ttcaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca 360

10 <210> 101  
<211> 360  
<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

15 <220>  
<223> VH grupo 1

<400> 101  
gaggtgcagc tgcaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca 360

20

<210> 102  
<211> 360  
<212> ADN

25 <213> Secuencia Artificial

<220>  
<223> VH grupo 1

30 <400> 102  
caggtgcagc tgcaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca 360

35 <210> 103  
<211> 360  
<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

40 <220>  
<223> VH grupo 1

ES 2 738 283 T3

	<400> 103		
	caggttcaac tgcaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60	
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120	
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180	
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240	
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300	
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca	360	
5	<210> 104 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial		
10	<220> <223> VH grupo 1		
	<400> 104		
	caggtccaac tgcaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60	
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120	
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180	
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240	
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300	
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca	360	
15			
	<210> 105 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial		
20	<220> <223> VH grupo 1		
25	<400> 105		
	gaggtccagc tgcaacagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60	
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120	
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180	
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240	
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300	
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga cactctcac agtctcctca	360	
30	<210> 106 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial		
35	<220> <223> VH grupo 1		
	<400> 106		

ES 2 738 283 T3

cagggtcaagc tgcaggagtc aggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
 tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
 cctgaacagg gacttgagt gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
 aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
 atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
 gtagtaggcc cagggctactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacgggtcac cgtctcctca 360

5 <210> 107  
 <211> 360  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 107  
 cagggtgaagc tgcaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
 tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
 cctgaacagg gacttgagt gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
 aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
 atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
 gtagtaggcc cagggctactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacgggtcac cgtctcctca 360

15 <210> 108  
 <211> 360  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 108  
 gaggtgaagc tgcagcagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg 60  
 tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg 120  
 cctgaacagg gacttgagt gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac 180  
 aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac 240  
 atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg 300  
 25 gtagtaggcc cagggctactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacgggtcac cgtctcctca 360

30 <210> 109  
 <211> 360  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>  
 <223> VH grupo 1

<400> 109

ES 2 738 283 T3

	gaggTcaaac tgcagcagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg ctctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca	360
5	<210> 110 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 110 gaggTgaagg tggTggagtc aggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg ctctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca	360
15	<210> 111 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 111 gaggTgaagg tggTggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg ctctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
25	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggg ccacggtcac cgtctcctca	360
30	<210> 112 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 112 gatgtgcagc ttcaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60

ES 2 738 283 T3

	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca	360
5	<210> 113 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 113 gaggtgcagc tgcagcagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga cccagtcac cgtctcctca	360
15	<210> 114 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 114 caggtgcagc tgaaggagtc aggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
25	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca	360
30	<210> 115 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 115 gaggtgatgc tggaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180

ES 2 738 283 T3

	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca	360
5	<210> 116 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VH grupo 1	
15	<220> <221> característica miscelánea <222> (7)..(7) <223> a, g o c	
	<400> 116 gaagtgnagc tggaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca	360
20	<210> 117 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
25	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 117 gatgtaaagc ttcaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
30	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca	360
35	<210> 118 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
40	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 118 gaggtgcaac tggaggagtc aggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60

ES 2 738 283 T3

	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaaċtgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc caggtactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca	360
5	<210> 119 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 119 gaggtgcagc tggaggatc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc caggtactt cgatgtctgg ggcgcagga cctcagtcac cgtctcctca	360
15	<210> 120 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> VH grupo 1	
25	<220> <221> característica miscelánea <222> (6)..(6) <223> a, t, g o c	
30	<220> <221> característica miscelánea <222> (15)..(15) <223> a, t, g o c	
	<400> 120 gaggtncagc tgcancagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
35	gtagtaggcc caggtactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca	360
40	<210> 121 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial  <220>	

ES 2 738 283 T3

	<223> VH grupo 1	
	<400> 121	
	gaggtgaagc tgatggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
5	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggga ccacggtcac cgtctcctca	360
	<210> 122	
	<211> 360	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> VH grupo 1	
15	<220>	
	<221> característica miscelánea	
	<222> (1)..(1)	
	<223> a, g o c	
20	<220>	
	<221> característica miscelánea	
	<222> (6)..(6)	
	<223> a, t, g o c	
25	<220>	
	<221> característica miscelánea	
	<222> (16)..(16)	
	<223> a, g o c	
30	<400> 122	
	naggtncaac tgcagnagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagggga ccacggtcac cgtctcctca	360
	<210> 123	
35	<211> 360	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
40	<223> VH grupo 1	
	<400> 123	
	gaggtgaagg tggaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata__ taaactgggt gagacagagg	120

ES 2 738 283 T3

	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga cctcagtcac cgtctcctca	360
5	<210> 124 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 124 gaggtgcagc tgaaggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca	360
15	<210> 125 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> VH grupo 1	
25	<220> <221> característica miscelánea <222> (337)..(337) <223> a, t o c	
30	<400> 125 gaggtgcaac tgcagcagtc aggagctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggactt cgatgtctgg ggcgcangga ccacggtcac cgtctcctca	360
35	<210> 126 <211> 360 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
40	<220> <223> VH grupo 1	
	<400> 126	

ES 2 738 283 T3

	gagggtgcagc ggggtggagtc tggagctgaa ctggtaaagc ctggg̃gcttc agtgaagttg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaga agttatgata taaactgggt gagacagagg	120
	cctgaacagg gacttgagtg gattggatgg attttctctg gagatggtag tactaagtac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actacagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcaggctgac atctgaggac tctgctgtct atttctgtgc aagatggacg	300
	gtagtaggcc cagggctactt cgatgtctgg ggcgcaggga ccacggtcac cgtctcctca	360
5	<210> 127 <211> 321 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> CL	
	<400> 127 cgggctgatg ctgcaccaac tgtatccatc ttcccacat ccagtgagca gttaacatct	60
	ggaggtgctt cagtcgtgtg cttcttgaac aacttctacc ccaaagacat caatgtcaag	120
	tggaagattg atggcagtg aagacaaaat ggcgtcctga acagttggac tgatcaggac	180
	agcaaagaca gcacctacag catgagcagc accctcacgt tgaccaagga cgagtatgaa	240
	cgacataaca gttatacctg tgaggccact cacaagacat caacttcacc cattgtcaag	300
	agcttcaaca ggaatgagtg t	321
15	<210> 128 <211> 1008 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> CH1-CH2-CH3	
	<400> 128 gccaaaacaa caccctcatc agtctatcca ctggcccctg ggtgtggaga tacaactggt	60
	tcctccgtga ctctgggatg cctggtaag ggctacttcc ctgagtcagt gactgtgact	120
	tggaactctg gatccctgtc cagcagtggt cacaccttcc cagctctcct gcagctctgga	180
	ctctacacta tgagcagctc agtgactgtc ccctccagca cctggccaag tcagaccgtc	240
	acctgcagcg ttgctcacc agccagcagc accacggtgg acaaaaaact tgagcccagc	300
	gggccattt caacaatcaa cccctgtcct ccatgcaagg agtgtcacia atgccagct	360
	cctaacctcg aggggtgacc atccgtctt atcttccctc caaatatcaa ggatgtactc	420
	atgatctccc tgacaccaa ggtcacgtgt gtggtggtgg atgtgagcga ggatgaccca	480
	gacgtccaga tcagctgggt tgtgaacaac gtggaagtac acacagctca gacacaaacc	540
	catagagagg attacaacag tactatccgg gtggtcagca ccctcccat ccagcaccag	600
	gactggatga gtggcaagga gttcaaatgc aaggtaaca acaaagacct cccatcacc	660
	atcgagagaa ccatctcaa aattaaagg ctagtcagag ctccacaagt atacatcttg	720
25	ccgccaccag cagagcagtt gtccaggaaa gatgtcagtc_ tcaactgcct ggtcgtgggc	780

ES 2 738 283 T3

ttcaaccctg gagacatcag tgtggagtgg accagcaatg ggcatacaga ggagaactac 840  
aaggacaccg caccagtcct ggactctgac ggttcttact tcatatatag caagctcaat 900  
atgaaaacaa gcaagtggga gaaaacagat tccttctcat gcaacgtgag acacgagggg 960  
ctgaaaaatt actacctgaa gaagaccatc tcccggcttc cgggtaaa 1008

5 <210> 129  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial  
<220>  
10 <223> Cadena ligera de CDR-L1 grupo 1  
<400> 129  
Ser Ala Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn  
1 5 10

15 <210> 130  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

20 <220>  
<223> Cadena ligera de CDR-L2 grupo 1

25 <400> 130  
Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser  
1 5

30 <210> 131  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

35 <220>  
<223> Cadena ligera de CDR-L1 grupo 3

<400> 131  
Lys Ala Ser Glu Asn Val Val Thr Tyr Val Ser  
1 5 10

40 <210> 132  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

45 <220>  
<223> Cadena ligera de CDR-L2 grupo 3

<400> 132  
Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr  
1 5

50 <210> 133  
<211> 10  
<212> PRT  
55 <213> Secuencia Artificial

ES 2 738 283 T3

<220>  
 <223> Cadena pesada de CDR-H1  
  
 <400> 133  
 5 Gly Tyr Thr Phe Arg Ser Tyr Asp Ile Asn  
 1 5 10  
  
 <210> 134  
 <211> 17  
 10 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
  
 <220>  
 <223> Cadena pesada de CDR-H2  
 15  
 <400> 134  
 Trp Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
 1 5 10 15  
  
 Gly  
  
 20 <210> 135  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
  
 25 <220>  
 <223> Cadena ligera de ABR1 grupo 1  
  
 <400> 135  
 Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn  
 1 5  
 30  
  
 <210> 136  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 35 <213> Secuencia Artificial  
  
 <220>  
 <223> Cadena ligera de ABR2 grupo 1  
 40 <400> 136  
 Leu Trp Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser  
 1 5 10  
  
 <210> 137  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 45 <213> Secuencia Artificial  
  
 <220>  
 <223> Cadena ligera de ABR3 grupo 1  
 50 <400> 137  
 Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Asn  
 1 5  
  
 55 <210> 138  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

- <220>  
<223> Cadena ligera de ABR1\* grupo 3
- 5 <400> 138  
Glu Asn Val Val Thr Tyr Val Ser  
1 5
- 10 <210> 139  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial
- 15 <220>  
<223> Cadena ligera de ABR2\* grupo 3
- <400> 139  
Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr  
1 5 10
- 20 <210> 140  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial
- 25 <220>  
<223> Cadena ligera de ABR3\* grupo 3
- 30 <400> 140  
Gly Gln Gly Tyr Ser Tyr Pro Tyr  
1 5
- 35 <210> 141  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial
- 40 <220>  
<223> Cadena pesada de ABR1h grupo 1
- <400> 141  
Tyr Thr Phe Arg Ser Tyr Asp Ile Asn  
1 5
- 45 <210> 142  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial
- 50 <220>  
<223> Cadena pesada de ABR2h grupo 2
- <400> 142  
Trp Ile Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr  
55 1 5 10
- 60 <210> 143  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

ES 2 738 283 T3

<220>

<223> Cadena pesada de ABR3h grupo 3

<400> 143

5 Arg Trp Thr Val Val Gly Pro Gly Tyr Phe Asp Val  
1 5 10

<210> 144

<211> 766

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> característica miscelánea

15 <223> >gij197692677|dbj|BAG70302.1| dipeptidilpeptidasa IV

<400> 144

Met Lys Thr Pro Trp Lys Val Leu Leu Gly Leu Leu Gly Ala Ala Ala  
1 5 10 15

Leu Val Thr Ile Ile Thr Val Pro Val Val Leu Leu Asn Lys Gly Thr  
20 25 30

Asp Asp Ala Thr Ala Asp Ser Arg Lys Thr Tyr Thr Leu Thr Asp Tyr  
35 40 45

Leu Lys Asn Thr Tyr Arg Leu Lys Leu Tyr Ser Leu Arg Trp Ile Ser  
50 55 60

Asp His Glu Tyr Leu Tyr Lys Gln Glu Asn Asn Ile Leu Val Phe Asn  
65 70 75 80

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

Glu Phe Gly His Ser Ile Asn Asp Tyr Ser Ile Ser Pro Asp Gly Gln  
100 105 110

Phe Ile Leu Leu Glu Tyr Asn Tyr Val Lys Gln Trp Arg His Ser Tyr  
115 120 125

Thr Ala Ser Tyr Asp Ile Tyr Asp Leu Asn Lys Arg Gln Leu Ile Thr  
130 135 140

Glu Glu Arg Ile Pro Asn Asn Thr Gln Trp Val Thr Trp Ser Pro Val  
145 150 155 160

. . .

ES 2 738 283 T3

Gly His Lys Leu Ala Tyr Val Trp Asn Asn Asp Ile Tyr Val Lys Ile  
 165 170 175  
 Glu Pro Asn Leu Pro Ser Tyr Arg Ile Thr Trp Thr Gly Lys Glu Asp  
 180 185 190  
 Ile Ile Tyr Asn Gly Ile Thr Asp Trp Val Tyr Glu Glu Glu Val Phe  
 195 200 205  
 Ser Ala Tyr Ser Ala Leu Trp Trp Ser Pro Asn Gly Thr Phe Leu Ala  
 210 215 220  
 Tyr Ala Gln Phe Asn Asp Thr Glu Val Pro Leu Ile Glu Tyr Ser Phe  
 225 230 235 240  
 Tyr Ser Asp Glu Ser Leu Gln Tyr Pro Lys Thr Val Arg Val Pro Tyr  
 245 250 255  
 Pro Lys Ala Gly Ala Val Asn Pro Thr Val Lys Phe Phe Val Val Asn  
 260 265 270  
 Thr Asp Ser Leu Ser Ser Val Thr Asn Ala Thr Ser Ile Gln Ile Thr  
 275 280 285  
 Ala Pro Ala Ser Met Leu Ile Gly Asp His Tyr Leu Cys Asp Val Thr  
 290 295 300  
 Trp Ala Thr Gln Glu Arg Ile Ser Leu Gln Trp Leu Arg Arg Ile Gln  
 305 310 315 320  
 Asn Tyr Ser Val Met Asp Ile Cys Asp Tyr Asp Glu Ser Ser Gly Arg  
 325 330 335  
 Trp Asn Cys Leu Val Ala Arg Gln His Ile Glu Met Ser Thr Thr Gly  
 340 345 350  
 Trp Val Gly Arg Phe Arg Pro Ser Glu Pro His Phe Thr Leu Asp Gly  
 355 360 365  
 Asn Ser Phe Tyr Lys Ile Ile Ser Asn Glu Glu Gly Tyr Arg His Ile  
 370 375 380  
 Cys Tyr Phe Gln Ile Asp Lys Lys Asp Cys Thr Phe Ile Thr Lys Gly  
 385 390 395 400  
 Thr Trp Glu Val Ile Gly Ile Glu Ala Leu Thr Ser Asp Tyr Leu Tyr  
 405 410 415  
 Tyr Ile Ser Asn Glu Tyr Lys Gly Met Pro Gly Gly Arg Asn Leu Tyr  
 420 425 430  
 Lys Ile Gln Leu Ser Asp Tyr Thr Lys Val Thr Cys Leu Ser Cys Glu

ES 2 738 283 T3

435                                      440                                      445  
 Leu Asn Pro Glu Arg Cys Gln Tyr Tyr Ser Val Ser Phe Ser Lys Glu  
 450                                      455                                      460  
 Ala Lys Tyr Tyr Gln Leu Arg Cys Ser Gly Pro Gly Leu Pro Leu Tyr  
 465                                      470                                      475                                      480  
 Thr Leu His Ser Ser Val Asn Asp Lys Gly Leu Arg Val Leu Glu Asp  
 485                                      490                                      495  
 Asn Ser Ala Leu Asp Lys Met Leu Gln Asn Val Gln Met Pro Ser Lys  
 500                                      505                                      510  
 Lys Leu Asp Phe Ile Ile Leu Asn Glu Thr Lys Phe Trp Tyr Gln Met  
 515                                      520                                      525  
 Ile Leu Pro Pro His Phe Asp Lys Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Leu  
 530                                      535                                      540  
 Asp Val Tyr Ala Gly Pro Cys Ser Gln Lys Ala Asp Thr Val Phe Arg  
 545                                      550                                      555                                      560  
 Leu Asn Trp Ala Thr Tyr Leu Ala Ser Thr Glu Asn Ile Ile Val Ala  
 565                                      570                                      575  
 Ser Phe Asp Gly Arg Gly Ser Gly Tyr Gln Gly Asp Lys Ile Met His  
 580                                      585                                      590  
 Ala Ile Asn Arg Arg Leu Gly Thr Phe Glu Val Glu Asp Gln Ile Glu  
 595                                      600                                      605  
 Ala Ala Arg Gln Phe Ser Lys Met Gly Phe Val Asp Asn Lys Arg Ile  
 610                                      615                                      620  
 Ala Ile Trp Gly Trp Ser Tyr Gly Gly Tyr Val Thr Ser Met Val Leu  
 625                                      630                                      635                                      640  
 Gly Ser Gly Ser Gly Val Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val  
 645                                      650                                      655  
 Ser Arg Trp Glu Tyr Tyr Asp Ser Val Tyr Thr Glu Arg Tyr Met Gly  
 660                                      665                                      670  
 Leu Pro Thr Pro Glu Asp Asn Leu Asp His Tyr Arg Asn Ser Thr Val  
 675                                      680                                      685  
 Met Ser Arg Ala Glu Asn Phe Lys Gln Val Glu Tyr Leu Leu Ile His  
 690                                      695                                      700  
 Gly Thr Ala Asp Asp Asn Val His Phe Gln Gln Ser Ala Gln Ile Ser  
 705                                      710                                      715                                      720  
 Lys Ala Leu Val Asp Val Gly Val Asp Phe Gln Ala Met Trp Tyr Thr  
 725                                      730                                      735  
 Asp Glu Asp His Gly Ile Ala Ser Ser Thr Ala His Gln His Ile Tyr  
 740                                      745                                      750  
 Thr His Met Ser His Phe Ile Lys Gln Cys Phe Ser Leu Pro  
 755                                      760                                      765

ES 2 738 283 T3

<210> 145  
 <211> 766  
 <212> PRT  
 5 <213> Sus scrofa

<220>  
 <221> característica miscelánea  
 <223> >gi|47523582|ref|NP\_999422.1| dipeptidil peptidasa 4

10

<400> 145  
 Met Lys Thr Pro Trp Lys Val Leu Leu Gly Leu Leu Gly Ile Ala Ala  
 1 5 10 15  
 Leu Val Thr Val Ile Thr Val Pro Val Val Leu Leu Asn Lys Gly Thr  
 20 25 30  
 Asp Asp Ala Ala Ala Asp Ser Arg Arg Thr Tyr Thr Leu Thr Asp Tyr  
 35 40 45  
 Leu Lys Ser Thr Phe Arg Val Lys Phe Tyr Thr Leu Gln Trp Ile Ser  
 50 55 60  
 Asp His Glu Tyr Leu Tyr Lys Gln Glu Asn Asn Ile Leu Leu Phe Asn  
 65 70 75 80  
 Ala Glu Tyr Gly Asn Ser Ser Ile Phe Leu Glu Asn Ser Thr Phe Asp  
 85 90 95  
 Glu Leu Gly Tyr Ser Thr Asn Asp Tyr Ser Val Ser Pro Asp Arg Gln  
 100 105 110  
 Phe Ile Leu Phe Glu Tyr Asn Tyr Val Lys Gln Trp Arg His Ser Tyr  
 115 120 125  
 Thr Ala Ser Tyr Asp Ile Tyr Asp Leu Asn Lys Arg Gln Leu Ile Thr  
 130 135 140  
 Glu Glu Arg Ile Pro Asn Asn Thr Gln Trp Ile Thr Trp Ser Pro Val  
 145 150 155 160  
 Gly His Lys Leu Ala Tyr Val Trp Asn Asn Asp Ile Tyr Val Lys Asn  
 165 170 175

ES 2 738 283 T3

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

ES 2 738 283 T3

Leu Asn Pro Glu Arg Cys Gln Tyr Tyr Ser Ala Ser Phe Ser Asn Lys  
 450 455 460  
 Ala Lys Tyr Tyr Gln Leu Arg Cys Phe Gly Pro Gly Leu Pro Leu Tyr  
 465 470 475 480  
 Thr Leu His Ser Ser Ser Ser Asp Lys Glu Leu Arg Val Leu Glu Asp  
 485 490 495  
 Asn Ser Ala Leu Asp Lys Met Leu Gln Asp Val Gln Met Pro Ser Lys  
 500 505 510  
 Lys Leu Asp Val Ile Asn Leu His Gly Thr Lys Phe Trp Tyr Gln Met  
 515 520 525  
 Ile Leu Pro Pro His Phe Asp Lys Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile  
 530 535 540  
 Glu Val Tyr Ala Gly Pro Cys Ser Gln Lys Val Asp Thr Val Phe Arg  
 545 550 555 560  
 Leu Ser Trp Ala Thr Tyr Leu Ala Ser Thr Glu Asn Ile Ile Val Ala  
 565 570 575  
 Ser Phe Asp Gly Arg Gly Ser Gly Tyr Gln Gly Asp Lys Ile Met His  
 580 585 590  
 Ala Ile Asn Arg Arg Leu Gly Thr Phe Glu Val Glu Asp Gln Ile Glu  
 595 600 605  
 Ala Thr Arg Gln Phe Ser Lys Met Gly Phe Val Asp Asp Lys Arg Ile  
 610 615 620  
 Ala Ile Trp Gly Trp Ser Tyr Gly Gly Tyr Val Thr Ser Met Val Leu  
 625 630 635 640  
 Gly Ala Gly Ser Gly Val Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val  
 645 650 655  
 Ser Lys Trp Glu Tyr Tyr Asp Ser Val Tyr Thr Glu Arg Tyr Met Gly  
 660 665 670  
 Leu Pro Thr Pro Glu Asp Asn Leu Asp Tyr Tyr Arg Asn Ser Thr Val  
 675 680 685  
 Met Ser Arg Ala Glu Asn Phe Lys Gln Val Glu Tyr Leu Leu Ile His  
 690 695 700  
 Gly Thr Ala Asp Asp Asn Val His Phe Gln Gln Ser Ala Gln Leu Ser  
 705 710 715 720  
 Lys Ala Leu Val Asp Ala Gly Val Asp Phe Gln Thr Met Trp Tyr Thr  
 725 730 735  
 Asp Glu Asp His Gly Ile Ala Ser Asn Met Ala His Gln His Ile Tyr  
 740 745 750  
 Thr His Met Ser His Phe Leu Lys Gln Cys Phe Ser Leu Pro  
 755 760 765

ES 2 738 283 T3

<211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 5 <220>  
 <221> característica miscelánea  
 <223> >CD26 EPITOPE 1  
 <400> 146  
 10 Asp Tyr Asp Glu Ser Ser Gly Arg Trp Asn Cys Leu Val Ala Arg  
 1 5 10 15  
 <210> 147  
 <211> 15  
 15 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <221> característica miscelánea  
 20 <223> >CD26 EPITOPE 2  
 <400> 147  
 Asp Val Thr Trp Ala Thr Gln Glu Arg Ile Ser Leu Gln Trp Leu  
 1 5 10 15  
 25 <210> 148  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 30 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <223> >CD26 EPITOPE 3  
 35 <400> 148  
 Trp Trp Ser Pro Asn Gly Thr Phe Leu Ala Tyr Ala Gln  
 1 5 10  
 40 <210> 149  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 45 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <223> >CD26 EPITOPE 4  
 <400> 149  
 Gln Leu Arg Cys Ser Gly Pro Gly Leu Pro Leu Tyr Thr Leu His  
 50 1 5 10 15  
 <210> 150  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 55 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <223> >CD26 EPITOPE 5  
 60 <400> 150

ES 2 738 283 T3

Leu Asn Glu Thr Lys Phe Trp Tyr Gln Met Ile Leu Pro  
 1 5 10

5 <210> 151  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <223> >CD26 EPITOPE 6

<400> 151  
 Met Gly Phe Val Asp Asn Lys Arg Ile Ala Ile Trp Gly Trp Ser Tyr  
 1 5 10 15

15 <210> 152  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

20 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <223> >CD26 EPITOPE 7

25 <400> 152  
 Pro Asn Gly Thr Phe  
 1 5

30 <210> 153  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

35 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <223> > CD26 EPITOPE 8

<400> 153  
 Thr Thr Gly Trp Val Gly Arg Phe Arg Pro Ser Glu Pro His Phe  
 1 5 10 15

40

45 <210> 154  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

50 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <223> >CD26 EPITOPE 9

<400> 154  
 Arg Phe Arg Pro Ser Glu Pro His Phe  
 1 5

55 <210> 155  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

60

<220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <223> >CD26 EPITOPE 10

5 <400> 155  
 Thr Phe Ile Thr Lys Gly Thr Trp Glu Val Ile Gly  
 1 5 10

<210> 156  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

15 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <223> >CD26 EPITOPE 11

<400> 156  
 Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ile Ser Asn Glu  
 1 5

20 <210> 157  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

25 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <223> >CD26 EPITOPE 12

30 <400> 157  
 Ser Cys Glu Leu Asn Pro Glu Arg Cys Gln Tyr Tyr  
 1 5 10

35 <210> 158  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

40 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <223> >CD26 EPITOPE 13

<400> 158  
 Ser Gly Pro Gly Leu Pro  
 1 5

45 <210> 159  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

50 <220>  
 <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA  
 <223> >CD26 EPITOPE 14

55 <400> 159  
 Ala Thr Gln Glu Arg  
 1 5

60

## REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo monoclonal aislado que se une específicamente a CD26 humana, dicho anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en donde dicha región variable de cadena pesada comprende una CDR1 de VH que comprende la secuencia descrita en el SEQ ID NO: 133, una CDR2 de VH que comprende la secuencia de descrita en el SEQ ID NO: 134, y una CDR3 de VH que comprende la secuencia de descrita en el SEQ ID NO: 1, y en donde dicha región variable de cadena ligera comprende una CDR1 de VL que comprende la secuencia de descrita en el SEQ ID NO: 129, una CDR2 de VL que comprende la secuencia de descrita en el SEQ ID NO: 130, y una CDR3 de VL que comprende la secuencia de descrita en el SEQ ID NO: 2, en donde dicha región variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 4 y 6 a 21, y en donde dicha región variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en los SEQ ID NO: 22 a 47.
2. El anticuerpo según la reivindicación 1, en donde dicha región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 4.
3. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 26.
4. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho anticuerpo comprende las mismas secuencias de cadena pesada y las mismas secuencias de cadena ligera que un anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002.
5. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho anticuerpo comprende una región constante de cadena ligera, dicha región constante de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que consiste en el SEQ ID NO: 48.
6. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, dicho anticuerpo es de clase IgG 2B, y/o en donde dicho anticuerpo comprende una secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 49.
7. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el anticuerpo es un anticuerpo recombinante, un anticuerpo quimérico, un fragmento de anticuerpo, un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo monoespecífico o un anticuerpo monovalente.
8. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el anticuerpo se produce a partir de la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002.
9. Un proceso para fabricar un anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende las siguientes etapas:
  - I. proporcionar la línea celular de hibridoma depositada en el CBA-ICLC de Génova (Italia) como PD 12002;
  - II. cultivar dicha célula huésped en un medio de cultivo; y
  - III. obtener el anticuerpo del medio;
  - IV. opcionalmente, purificar el anticuerpo, por ejemplo, por cromatografía de exclusión por tamaño, cromatografía de afinidad, cromatografía de intercambio de iones, filtración y/o nanofiltración.
10. Una composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y, opcionalmente, al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.
11. La composición farmacéutica de la reivindicación 10 para su uso como medicamento.
12. La composición farmacéutica de la reivindicación 11
  - (a) para su uso en la prevención y/o tratamiento de la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), preferiblemente, después de trasplante de células madre hematopoyéticas, y/o
  - (b) para su uso en la prevención y/o tratamiento de la anemia aplásica, preferiblemente, anemia aplásica grave.
13. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso como medicamento.
14. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en la prevención y/o tratamiento de la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), preferiblemente, después de trasplante de células madre hematopoyéticas, y/o para su uso en la prevención y/o tratamiento de la anemia aplásica, preferiblemente, anemia aplásica grave.
15. Un kit que comprende:

- I. al menos un anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, y adicionalmente
- II. a) al menos un fármaco inmunosupresor, o
  - b) al menos un corticosteroide y al menos un antihistamínico.

FIG. 1a – Secuencia de CD26 humana según GenBank: BAG70302.1 (SEQ ID NO: 144)

```
>gi|197692677|dbj|BAG70302.1| dipeptidylpeptidase IV [Homo sapiens]
MKTTPWKVLLGLLGAAALVTIITVPVLLNKGTTDDATADSRKTYTLTDYLNKTYRLKLYSLRWISDHEYLY
KQENNILVFNAEYGNSSVFLENSTFDEFGHSINDYSISPDGQFILLEYNVVKQWRHSYTASYDIYDLNKR
QLITEERIPNNTQWVTWSPVGHKLAYVWNNDIYVKIEPNLPSYRITWTGKEDIYNGITDWVYEEVFSA
YSALWWSPNGTFLAYAQFNDTEVPLIEYSFYSDSLQYPKTVRVPPKAGAVNPTVKFFVNTDSLSSVT
NATSIQITAPASMLIGDHLYCDVTWATQERISLQWLRRIQNYSVMDICDYDESSGRWNCILVARQHIEMST
TGWVGRFRPSEPHTLDGNSFYKIIISNEEGYRHICYFQIDKKDCTFITKGTWEVIGIEALTSYLYYISN
EYKGMPPGRNLYKIQLSDYTKVTCLSCELNPERCQYYSVFSKEAKYYQLRCSGPGPLPLYTLHSSVNDKG
LRVLEDNSALDKMLQNVQMPSSKLDFIILNETKFWYQMLPPHFDKSKKYPLLLDVYAGPCSQKADTVFR
LNWATYLASTENIIVASFDGRGSGYQGDKIMHAINRRLGTFEVEDQIEAARQFSKMGFVNDKRIAIWGS
YGGYVTSMLVLSGSGVFKCGIAPVSRWEYYDSVYTERYMGLPTPEDNLDHYRNSTVMSRAENFKQVEY
LLIHGTADDNVHFQQSAQISKALVDVGVDFQAMWYTDDEDHGIASSTAHQHIYTHMSHFQKCFSLP
```

**FIG. 1a**

FIG. 1b – Secuencia de CD26 porcina según GenBank: BAG70302.1 (SEQ ID NO: 145)

```
>gi|47523582|ref|NP_999422.1| dipeptidyl peptidase 4 [Sus scrofa]
MKTTPWKVLLGLLGIAALVTIITVPVLLNKGTTDDAAADSRRTYTLTDYLNKSTFRVKFYTLQWISDHEYLY
KQENNILLFNAEYGNSSIFLENSTFDELGYSTNDYSVSPDRQFILFEYNVVKQWRHSYTASYDIYDLNKR
QLITEERIPNNTQWITWSPVGHKLAYVWNNDIYVKNEPNLSSQRITWTGKENVIYNGVTDWVYEEVFSA
YSALWWSPNGTFLAYAQFNDTEVPLIEYSFYSDSLQYPKTVRIIPPYKAGAENPTVKFFVVDTRTLSPNA
SVTSYQIVPPASVLIGDHLYCGVTWVTEERISLQWIRRAQNYSIIDICDYDESTGRWISSVARQHIEIST
TGWVGRFRPAEPHFTSDGNSFYKIIISNEEGYKHICHFQTDKSNCTFITKGAWEVIGIEALTSYLYYISN
EHKGMPPGRNLYRIQLNDYTKVTCLSCELNPERCQYYSASFNSKAKYYQLRCFGPGLPLYTLHSSSSDKE
LRVLEDNSALDKMLQDVQMPSSKLDVINLHGTKFWYQMLPPHFDKSKKYPLLIEVYAGPCSQKVDTVFR
LSWATYLASTENIIVASFDGRGSGYQGDKIMHAINRRLGTFEVEDQIEATRQFSKMGFVDDKRIAIWGS
YGGYVTSMLVLSGSGVFKCGIAPVSKWEYYDSVYTERYMGLPTPEDNLDYRNSTVMSRAENFKQVEY
LLIHGTADDNVHFQQSAQLSKALVDAGVDFQTMWYTDDEDHGIASNMAHQHIYTHMSHFQKCFSLP
```

**FIG. 1b**

FIG. 1c – CD26 humana (Homo) y porcina (Sus) alineadas

Homo	1	MKTPWKVLLGLLGAAALVTIIITVPVLLNKGTDDATADSRKTYTLTDYLNKNTYRLKLYSL	60
Sus	1	.....I.....V.....A....R.....S.F.V.F.T.	60
Homo	61	RWISDHEYLYKQENNILVFNAEYGNSSVFLENSTFDEFHGHSINDYSISPDGQFILLENY	120
Sus	61	Q.....L.....I.....L.Y.T....V...R....F....	120
Homo	121	VKQWRHSYASYDIYDLNKRQLITEERIPNNTQWVTWSPVGHKLAYVWNNDIYVKIEPNL	180
Sus	121	.....I.....N....	180
Homo	181	PSYRITWTGKEDIYNGITDWVYEEEVFSAYSALWVSPNGTFLAYAQFNDTEVPLIEYSF	240
Sus	181	S.Q.....NV....V.....	240
Homo	241	YSDESLQYPKTVRVYPKAGAVNPTVKFFVNTDSLSSVTNATSIQITAPASMLIGDHYL	300
Sus	241	.....I.....E.....D.RT..PNASV..Y..VP...V.....	300
Homo	301	CDVTWATQERISLQWLRRIQNYVMDICDYDESSGRWNCLVARQHIEMSTTGWVGRFRPS	360
Sus	301	.G...V.E.....I..A....II.....T...ISS.....I.....A	360
Homo	361	EPHF'TLDGNSFYKIIISNEEGYRHICYFQIDKDCITFITKGTWEVIGIEALTSYLYYISN	420
Sus	361	.....S.....K...H..T..SN.....A.....	420
Homo	421	EYKGMPPGRNLYKIQLSDYTKVTCLSCELNPERCQYYSVSFSKEAKYYQLRCSGPGPLPLY	480
Sus	421	.H.....R...N.....A...NK.....F.....	480
Homo	481	TLHSSVNDKGLRVLEDNSALDKMLQNVQMPSKLDIFIILNETKFWYQMLPPHFDKSKKY	540
Sus	481	.....SS..E.....D.....V.N.HG.....	540
Homo	541	PLLLDVYAGPCSQKADTVFRLNWATYLASTENIIVASFDRGSGYQGDKIMHAINRRLGT	600
Sus	541	...IE.....V.....S.....	600
Homo	601	FEVEDQIEAARQFSKMGFVDNKRIAIWGSYGGYVTSMLVLSGSGVFKCGIAPVSRWE	660
Sus	601	.....T.....D.....A.....K..	660
Homo	661	YYDSVYTERYMGLEPTPEDNLDHYRNSTVMSRAENFKQVEYLLIHGTADDNVHFQOQAQIS	720
Sus	661	.....Y.....L.	720
Homo	721	KALVDVGVDFQAMWYTDDEHGIASSTAHQHIYTHMSHFQCFSLP	766
Sus	721	.....A.....T.....NM.....L.....	766

FIG. 1c

FIG. 2a – Secuencias de CDR3, que pueden estar presentes en un anticuerpo según la presente invención

Nombre	Seq. ID	Secuencia
Grupo 1 pesada CDR3	SEQ 1	WTVVGPYFDV
Grupo 1 prevalente ligera CDR3	SEQ 2	QQRSSYPNT
Grupo 1 ligera CDR3	SEQ 3	GQGYSYPYT

FIG. 2a

FIG. 2b – Lista de las secuencias del CDR1 de VH, CDR2 de VH, CDR3 de VH, CDR1 de VL, CDR2 de VL y CDR3 de VL de anticuerpos específicos de CD26

V <sub>H</sub> /V <sub>L</sub>	CDR1	CDR2	CDR3
Grupo 1 VH	GYTFRSYDIN SEQ ID NO: 133	WIFPGDGSTKYNEKFKG SEQ ID NO: 134	WTVVGPYFDV SEQ ID NO: 1
Grupo 1 VL	SASSSVSYMN SEQ ID NO: 129	STSNLAS SEQ ID NO: 130	QQRSSYPNT SEQ ID NO: 2
Grupo 3 VL	KASENVVITYVS SEQ ID NO: 131	GASNRYT SEQ ID NO: 132	GQGYSYPYT SEQ ID NO: 3

FIG. 2b

FIG. 2c – Lista de las secuencias del ABR1 de VH, ABR2 de VH, ABR3 de VH, ABR1 de VL, ABR2 de VL y ABR3 de VL de anticuerpos específicos de CD26

V <sub>H</sub> /V <sub>L</sub>	ABR1	ABR2	ABR3
Grupo 1 VH	YTFRSYDIN SEQ ID NO: 141	WIGWIFPGDGSTKY SEQ ID NO: 142	RWTVVGPGYFDV SEQ ID NO: 143
Grupo 1 VL	SSVSYMN SEQ ID NO: 135	LWIYSTSNLAS SEQ ID NO: 136	QQRSSYPN SEQ ID NO: 137
Grupo 3 VL	ENVVITYVS SEQ ID NO: 138	LLIYGASNRYT SEQ ID NO: 139	GQGYSYPY SEQ ID NO: 140

FIG. 2c

FIG. 3 – Similitud de secuencia, vista en las distintas regiones VH y VL, que pueden estar presentes en un anticuerpo según la presente invención, con CDR

VH	CDR 1	CDR 2	
SEQ22	EVKIQESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ42	EVKLMESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ30	QVKIQESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ38	DVKIQESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ29	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ46	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ24	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ34	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ41	EVQLHQS GAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ31	EVKIQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ26	QVQLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ43	XVQLHQS GAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ27	EVQLQESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ28	QVQLQESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ33	DVQLQESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ35	QVQLKESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ45	EVQLKESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ32	EVKVVESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ44	EVKVVESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ23	EVKLVESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ36	EVMLVESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ37	EVXLVESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ25	EVQGVESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ47	EVQRVESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ39	EVQLVESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
SEQ40	EVQLVESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFRSYDINWVRQRPEQGLEWIGWIFPGDGSTKY		60
	* * * * *		
	CDR 2	CDR 3	
SEQ22	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ42	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ30	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ38	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ29	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ46	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAXTTVTVSS		120
SEQ24	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ34	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTPTVSS		120
SEQ41	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ31	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ26	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ43	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ27	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ28	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ33	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ35	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ45	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ32	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ44	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTSTVSS		120
SEQ23	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ36	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ37	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ25	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ47	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ39	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTTVTVSS		120
SEQ40	NEKFKGKATLTDDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCARWTVVGPYFDVWGAGTSTVSS		120
	* * * * *		

La línea sobre la regla se utiliza para marcar las posiciones conservadas considerablemente.

Los tres caracteres (\*, ':' y '.') se utilizan para lo siguiente:

\* indica posiciones que tienen un residuo único completamente conservado

:' indica que uno de los siguientes grupos 'fuertes' se conserva completamente

.' indica que uno de los siguientes grupos 'más débiles' se conserva completamente

VL

Grupo 1

	CDR 1	CDR 2	
SEQ6	-----	-----	DIVLTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ10	-----	-----	DIVMTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ19	-----	-----	DVLMTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ21	-----	-----	DVLMTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ18	-----	-----	DILXTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ9	-----	-----	DIVMTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ20	-----	-----	DIVMTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ17	-----	-----	DILMTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ11	-----	-----	DIQMTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ13	-----	-----	DIQMTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ14	-----	-----	DIQMTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ12	-----	-----	DIKINQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ15	-----	-----	DILLTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ16	-----	-----	DIQLTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ8	-----	-----	DIVLTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQPrevalente	-----	-----	QIVLTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
SEQ7	-----	-----	DIELTQSPAIMASASPGEKVTITCSASSSVSYMNWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPAR 60
			:: * :*****

	CDR 3	
SEQ6	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLELKR 107
SEQ10	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLELKR 107
SEQ19	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLEIKR 107
SEQ21	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLELKR 107
SEQ18	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLELKR 107
SEQ9	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLEIKR 107
SEQ20	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLEIKR 107
SEQ17	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLEIKR 107
SEQ11	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLEIKR 107
SEQ13	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLEIKR 107
SEQ14	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLEIKR 107
SEQ12	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLEIKR 107
SEQ15	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLEIKR 107
SEQ16	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLEIKR 107
SEQ8	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLEIKR 107
SEQPrevalente	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLEIK- 106
SEQ7	-----	FSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPNTFGGGKLEINV 107
		*****::

Grupo 3

	CDR 1	CDR 2	
Grupo 3 VL	-----	-----	DIVMTQSPKSMMSVGERVTLTKASENVVTVYSWYQQKPEQSPKLLIYGASNRYTGVPD 60
Grupo 3 VL	-----	-----	RFTGSGSATDFTLTISSVQAEDLADYHCGQGYSPYTFGGGKLEIKR 108
			CDR 3

La línea sobre la regla se utiliza para marcar las posiciones conservadas considerablemente.

Los tres caracteres ('\*', ':' y '.') se utilizan para lo siguiente:

'\*' indica posiciones que tienen un residuo único completamente conservado

':' indica que uno de los siguientes grupos 'fuertes' se conserva completamente

'.' indica que uno de los siguientes grupos 'más débiles' se conserva completamente

FIG. 3

FIG. 4a – Clasificación de EICH cutánea, día 1, 10, 30 y último

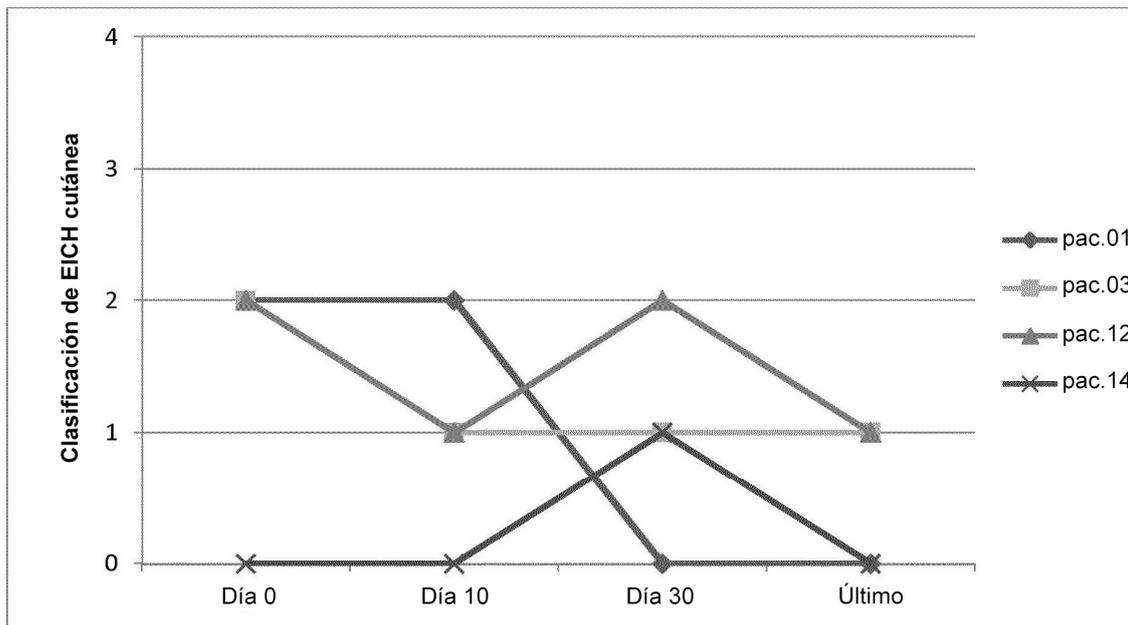


FIG. 4a

FIG. 4b – Clasificación de EICH hepática, día 1, 10, 30 y último

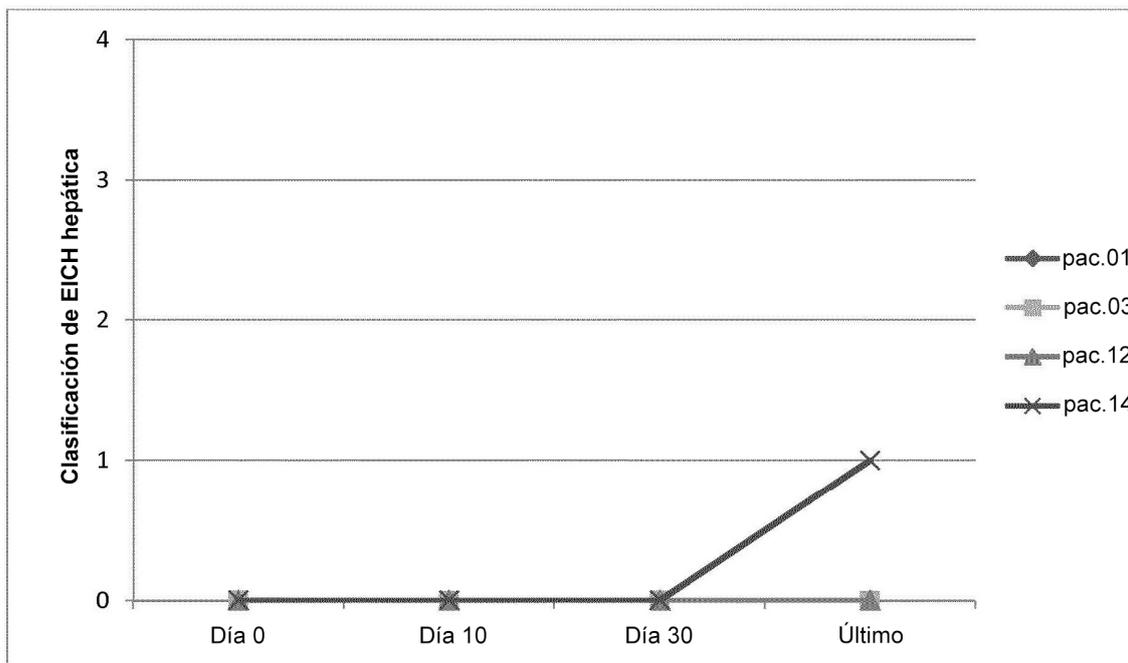


FIG. 4b

Fig. 4c – Clasificación de EICH intestinal, día 1, 10, 30 y último

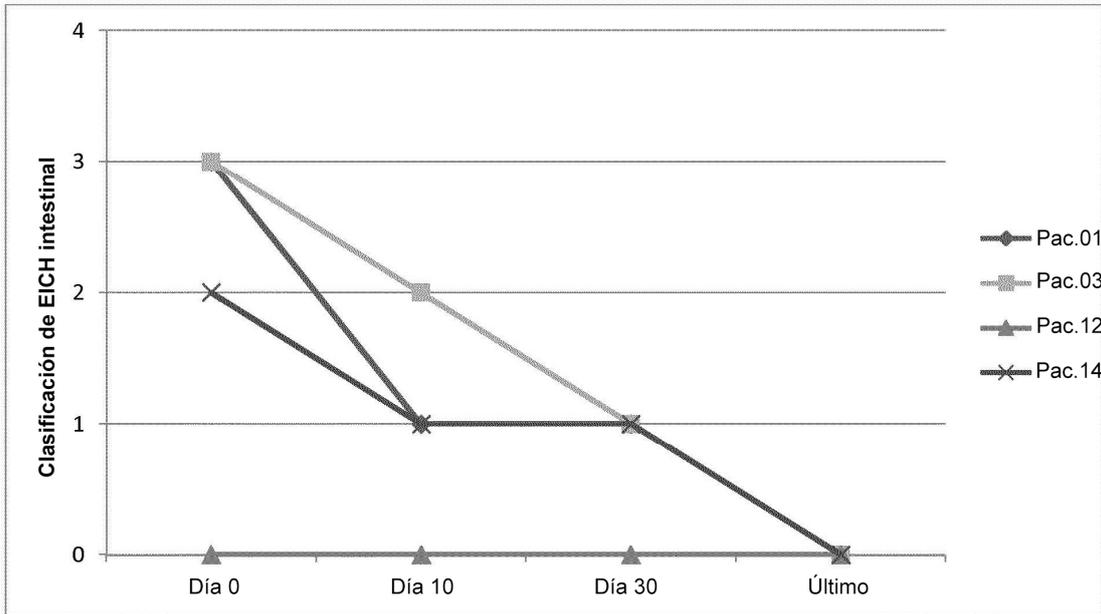


FIG. 4c

Fig. 5 – Recuentos absolutos de CD4

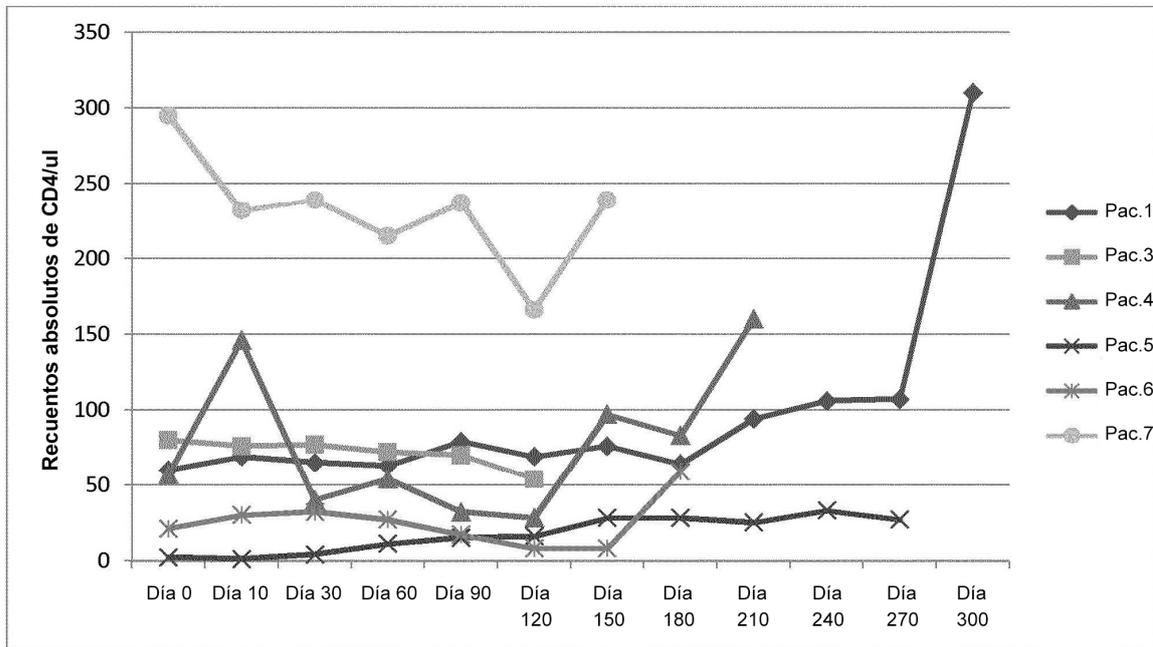


FIG. 5

INCIDENCIA ACUMULATIVA DE MORTALIDAD RELACIONADA CON EL TRASPLANTE  
Pacientes con EICH aguda grado III-IV

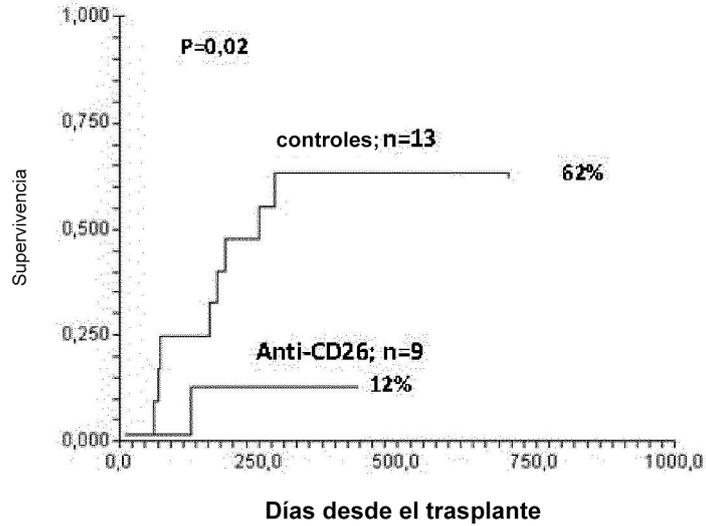


FIG. 6

SUPERVIVENCIA ACTUARIAL  
Pacientes con EICH aguda grado III-IV

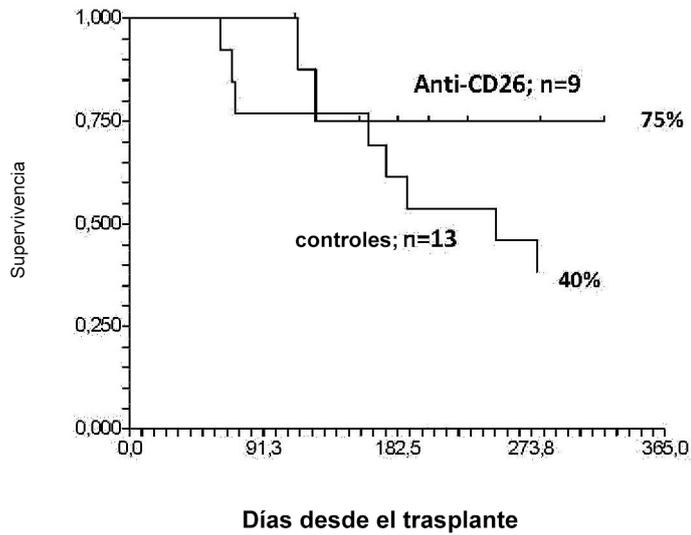


FIG. 7

FIG. 8 – Estructura de anticuerpos preferidos, según la presente invención. La Figura muestra dos grupos diferentes de cadena ligera que pueden formar un anticuerpo de la presente invención (grupo 1 VL y grupo 3 VL)

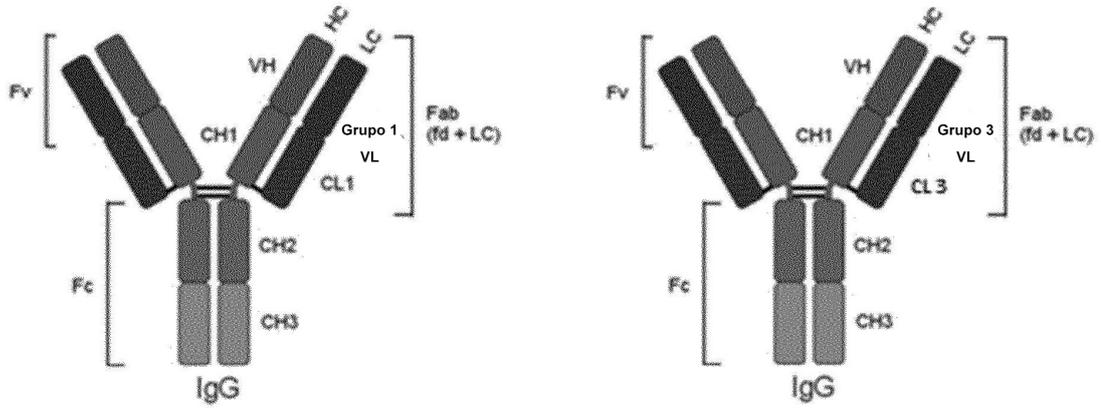


FIG. 8

FIG. 9 – Análisis de citometría de flujo para determinar la capacidad de CDina26 de unirse a la CD26 expresada en la superficie celular

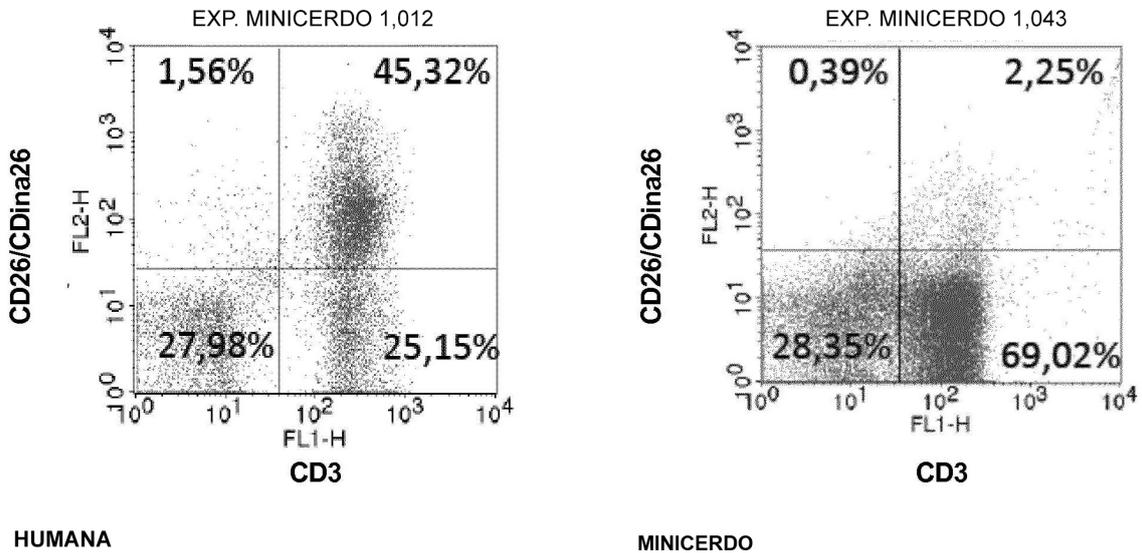


FIG. 9

FIG. 10 – Tabla resumen de las secuencias de CD26

Tipo	SEQ N° Aminoácidos	SEQ N° Nucleótidos	Tipo	SEQ N° Aminoácidos	SEQ N° Nucleótidos
Grupo 1 ligera CDR-L1	129		Grupo 1 ligera ABR1	135	
Grupo 1 ligera CDR-L2	130		Grupo 1 ligera ABR2	136	
Grupo 1 ligera CDR-L3	2		Grupo 1 ligera ABR3	137	
Grupo 3 ligera CDR-L1	131		Grupo 3 ligera ABR1*	138	
Grupo 3 ligera CDR-L2	132		Grupo 3 ligera ABR2*	139	
Grupo 3 ligera CDR-L3	3		Grupo 3 ligera ABR3*	140	
Pesada CDR-H1	133		Grupo 1 pesada ABR1h	141	
Pesada CDR-H2	134		Grupo 2 pesada ABR2h	142	
Pesada CDR-H3	1		Grupo 3 pesada ABR3h	143	
VL prevalente (grupo 1)	4	50	Grupo 1 VH	25	92
Grupo 3 VL	5	51			93
Grupo 1 VL	6	52		26	94
	7	53			95
	8	54			96
		55			97
	9	56			98
		57		27	99
		58			100
		59			101
		60		28	102
		61			103
		62			104
	10	63		29	105
		64		30	106
		65			107
		66		31	108
	11	67			109
	12	68		32	110
	13	69			111
	14	70		33	112
	15	71		34	113
16	72	35		114	
17	73	36		115	
18	74	37	116		
19	75	38	117		
20	76	39	118		
21	77	40	119		
Grupo 1 VH	22	78	41	120	
		79	42	121	
		80	43	122	
		81	44	123	
		82	45	124	
	23	83	46	125	
		84	47	126	
		85	48	127	
		86	CL		
		87	CH1-CH2-CH3		
	24	88	49	128	
	89				
	90				
	91				

FIG. 10

FIG. 11 – Unión del antígeno (Ag) humano (izquierda) y porcino (derecha) en CDina26 capturado. Medido en unidades de resonancia (UR) de Biacore®

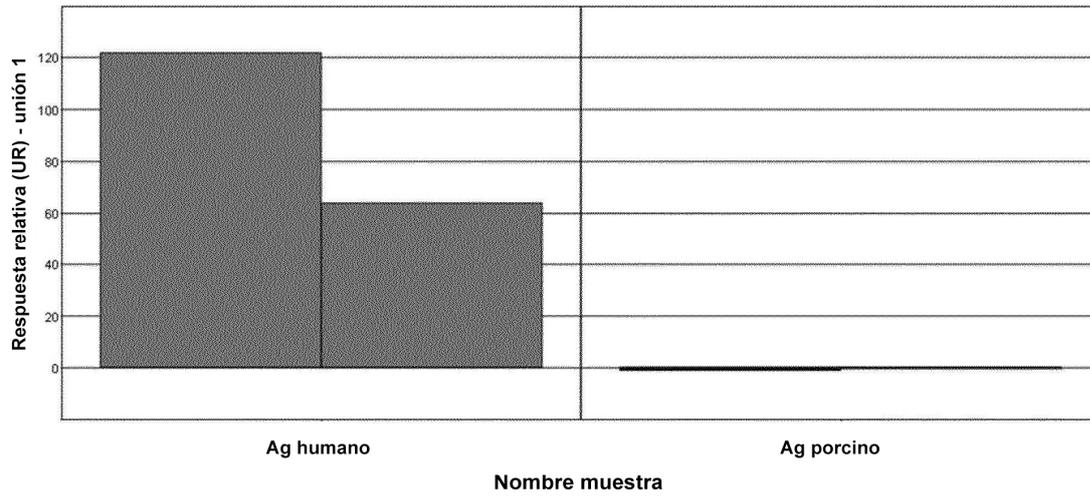


FIG. 11

FIG. 12 – Gráfico de barras de la comparación de la unión de CDina26 a las 7 regiones de unión discontinuas identificadas en CD26

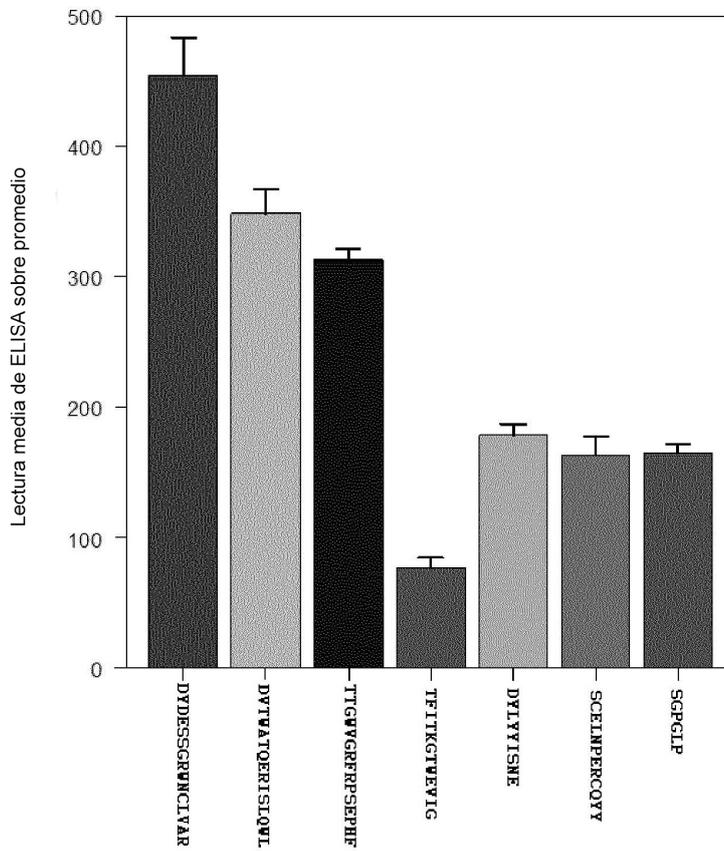


FIG. 12