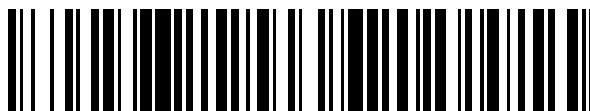


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 732**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.11.2012** **PCT/US2012/064933**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.05.2013** **WO13074569**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.11.2012** **E 12788410 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2019** **EP 2780373**

54 Título: **Anticuerpos anti IL-36R**

30 Prioridad:

16.11.2011 US 201161560554 P

08.05.2012 US 201261644111 P

15.10.2012 US 201261713713 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.04.2020

73 Titular/es:

BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL

GMBH (100.0%)

Binger Strasse 173

55216 Ingelheim am Rhein, DE

72 Inventor/es:

BROWN, SU-ELLEN;

CANADA, KEITH;

CHLEWICKI, LUKASZ;

HOWELL, MICHAEL;

MENNERICH, DETLEV y

WOSKA JR., JOSEPH ROBERT

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 755 732 T3

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

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos anti IL-36R

5 Listado de secuencias

La presente solicitud contiene un Listado de Secuencias que se ha enviado en formato ASCII a través de EFS-Web y se incorpora por referencia en su totalidad. Dicha copia ASCII, creada el 12 de noviembre de 2012, se llama 09-0583WO.txt y tiene un tamaño de 147.390 bytes.

10

Campo técnico de la invención

Esta invención generalmente se refiere a anticuerpos anti-IL-36R para uso diagnóstico y terapéutico. Los anticuerpos pueden usarse en composiciones farmacéuticas y kits que comprenden tales compuestos. Los anticuerpos son útiles en el tratamiento de diversas enfermedades o trastornos, por ejemplo, enfermedades inmunológicas, inflamatorias, autoinmunes, fibróticas y respiratorias en humanos.

Antecedentes de la invención

20 La familia de citocinas IL-1 está compuesta por 11 ligandos diferentes, a saber, IL-1 α (también denominado IL-1F1), IL-1 β (IL-1F2), antagonista del receptor de IL-1 (IL-1Ra o IL-1F3), IL-18 (IL-1F4), IL-1F5 a IL-1F10 e IL-1F11 (o IL-33). Se sabe que IL-1 α e IL-1 β inducen actividades proinflamatorias al unirse al receptor de IL-1 tipo I (IL-1RI) y al reclutamiento del co-receptor común la proteína accesoria del receptor de IL-1 (IL-1RAcP), mientras que IL-1Ra actúa como un inhibidor competitivo de la unión de IL-1 a IL-1RI, ejerciendo así actividad antiinflamatoria. Numerosos estudios describieron que IL-18 es una citocina proinflamatoria que es un inductor de IFN- γ , mientras que IL-33 se describió como una citocina inmunoreguladora involucrada en particular en el control de las respuestas Th2. Los nuevos miembros de la familia IL-1, incluidos IL-1F5, IL-1F6, IL-1F8 e IL-1F9, se identificaron mediante búsquedas en bases de datos de ADN de homólogos de IL-1. En humanos y ratones, todos los genes que codifican estas citocinas se asignan a menos de 300 kb del cromosoma 2q, donde están flanqueados por los genes IL1A, IL1B e IL1RN. IL-1 F6, IL-1F8 e IL-1F9 comparten una homología de secuencia de aminoácidos del 21% al 37% con IL-1 e IL-1Ra, mientras que IL-1F5 muestra una homología de secuencia de aminoácidos del 52% con IL-1Ra, lo que sugiere que IL-1F5 podría representar un antagonista del receptor endógeno.

35 IL-1F6, IL-1F8 e IL-1F9 se unen a IL-1Rrp2, un receptor de la familia IL-1R, y usan IL-1RAcP como co-receptor para estimular señales intracelulares similares a las inducidas por IL-1, mientras que se demostró que IL-1F5 inhibe la activación de NF- κ B inducida por IL-1F9 en células Jurkat T que sobreexpresan IL-1Rrp2. Al igual que IL-1 β , todos estos homólogos de IL-1 carecen de un péptido líder y no pueden liberarse a través de la vía secretora convencional, aunque los estudios sugieren que la liberación de agonistas de IL-1Rrp2 puede controlarse mediante mecanismos diferentes a los que regulan la secreción de IL-1 β . Para reconocer los efectos biológicos específicos de estas citocinas y reconocer que todas se unen al mismo receptor, recientemente se ha propuesto modificar la nomenclatura de los homólogos de IL-1. Por lo tanto, IL-1Rrp2 ahora se denomina IL-36R y sus ligandos se denominan IL-36 α (IL-1F6), IL-36 β (IL-1F8) e IL-36 γ (IL-1F9). Además, IL-1F5, que se ha demostrado que ejerce actividades antagonistas del receptor, se ha renombrado como IL-36Ra.

45 Los ARN mensajeros para IL-36 α , IL-36 β e IL-36 γ se expresan altamente en varios tejidos, particularmente en tejidos epiteliales internos, que están expuestos a patógenos y en la piel. Curiosamente, la expresión de IL-36Ra e IL-36 α está significativamente regulada por incremento en los queratinocitos humanos estimulados por IL-1 β /TNF- α , y el ARNm de IL-36Ra e IL-36 γ aumenta mucho en la piel con psoriasis lesional. Además, la producción de proteína IL-36 γ aumenta en los queratinocitos humanos después de la estimulación de TNF- α e IFN- γ . La expresión elevada de ARNm de IL-36 α y de proteínas también se describió en la enfermedad renal crónica.

50 Los ratones transgénicos que sobreexpresan IL-36 α en queratinocitos presentan lesiones inflamatorias de la piel que comparten algunas características con la psoriasis. Este fenotipo fue más grave cuando los ratones transgénicos se cruzaron con ratones deficientes en IL-36Ra, lo que respalda una función reguladora de IL-36Ra in vivo. La condición inflamatoria de la piel en el transgénico IL-36 α específico de queratinocitos es aún más similar a la psoriasis humana si los ratones se tratan con 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol, que se asemeja a la enfermedad humana histológica, molecular y en su respuesta a la terapéutica. Además, la piel con lesión psoriásica humana trasplantada en ratones inmunodeficientes se normaliza cuando los ratones se tratan con anticuerpo anti-IL-36R, argumentando que se requiere el eje IL-36 para mantener el fenotipo lesional en la piel psoriásica humana (Blumberg H. et al., J. Immunol 2010; 185: 4354-4362). Tomados en conjunto, estos datos indican que los ligandos de IL-36R, incluidos IL-36 α , IL-36 β e IL-36 γ , ejercen efectos proinflamatorios in vitro e in vivo y que IL-36Ra actúa como un antagonista natural, imitando así al sistema IL-1/IL-1 Ra.

65 Por lo tanto, existe evidencia de que los ligandos de IL-36R están implicados en una serie de afecciones de la enfermedad, y existe la necesidad de nuevos agentes terapéuticos dirigidos a esta vía, en particular para su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

Resumen de la invención

El alcance de la invención se define por las reivindicaciones adjuntas. La presente invención aborda la necesidad anterior proporcionando bioterapéuticos, en particular anticuerpos, que se unen a IL-36R. Los anticuerpos de la presente invención bloquean la señalización mediada por ligando IL36 (α , β y/o γ). Además, los anticuerpos de la presente invención son útiles, por ejemplo, para el tratamiento de la inflamación/fibrosis mediada por el epitelio en enfermedades tales como psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, esclerodermia, EPOC y enfermedad renal crónica.

En un aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-IL-36R o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 80; y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 87; una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 80; y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 88; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 80; y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 89.

En un aspecto, el anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención tiene una alta potencia de unión molecular/celular. En una realización, el anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención se une al IL-36R humano a una $K_D < 0,1$ nM. En otro aspecto, el anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención, en particular un anticuerpo anti-IL-36R humanizado, se une al IL-36R humano a una $K_D < 50$ pM. En un aspecto, el anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención se une a células que expresan IL-36R a una $CE_{90} < 5$ nM.

En otro aspecto, el anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención tiene una alta potencia de bloqueo funcional basada en células. En un aspecto, el anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención bloquea los tres ligandos agonistas de IL-36R (α , β , γ) a un $CI_{90} \leq 5$ nM, en líneas celulares relevantes para la enfermedad y células primarias.

En un aspecto, el anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención tiene la potencia de unión molecular/celular y la potencia de bloqueo funcional basada en células establecida anteriormente.

En un aspecto adicional, el anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención tiene una alta selectividad, por ejemplo, una selectividad mayor de 1000 veces contra las líneas celulares negativas para IL-1R1 o IL-36R humano. En otro aspecto, el anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención no se une a las líneas celulares negativas para IL-1 R1 o IL-36R humano.

En la realización uno, el anticuerpo anti-IL-36R o el fragmento de unión a antígeno del mismo se une al IL-36R humano a una K_D igual o $< 0,1$ nM.

En la realización dos, el anticuerpo anti-IL-36R o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la realización uno es un anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo.

En la realización tres, el anticuerpo anti-IL-36R o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la realización uno o dos es un anticuerpo humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo.

En la realización cuatro, el anticuerpo anti-IL-36R o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la realización tres se une a la IL-36R humana a una K_D igual o < 50 pM.

En la realización cinco, el anticuerpo anti-IL-36R o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las realizaciones uno a cuatro no se une a la IL-1R1 humana.

La presente invención proporciona un anticuerpo anti-IL-36R o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la realización seis, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende:

a) una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 26 (L-CDR1); la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 104 (L-CDR2); la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 44 (L-CDR3); y

b) una región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 53 (H-CDR1); la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 62 (H-CDR2); la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 72 (H-CDR3), en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 80; y una región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las Id. de Sec. nº: 87, 88, 89.

En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 80; y

una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 87, o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 80; y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 88; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 80; y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 89.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-IL-36R, en el que el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las Id. de Sec. nº: 118; y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las Id. de Sec. nº: 125, 126 y 127.

En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-IL-36R, en el que el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 118; y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 125.

En otra realización, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-IL-36R, en el que el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 118; y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 126.

En otra realización más, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-IL-36R, en el que el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 118; y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 127.

En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la invención es un anticuerpo monoclonal. En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la invención es un anticuerpo humanizado. En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la invención es un anticuerpo monoclonal humanizado.

En una realización adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En una realización adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores, para uso en medicina.

En una realización adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o composición farmacéutica de acuerdo con la invención, para uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria, de una enfermedad autoinmune, de una enfermedad respiratoria, de un trastorno metabólico, de un trastorno inflamatorio mediado por el epitelio, fibrosis o cáncer.

En una realización adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o composición farmacéutica para usar de acuerdo con la invención, en donde el uso es para el tratamiento de psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, EPOC, asma crónica o espondilitis anquilosante. En una realización adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o composición farmacéutica para usar de acuerdo con la invención, en donde el uso es para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal.

En otra realización adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención, en donde la enfermedad es la enfermedad de Crohn.

Otras realizaciones de la invención incluyen:

- Un polinucleótido aislado que comprende una secuencia que codifica un anticuerpo anti-IL-36R o un fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la invención, preferiblemente una secuencia de ADN o ARN;
- un polinucleótido aislado de acuerdo con la invención, que codifica (a) una región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la Id. de Sec. nº: 80, y una región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la Id. de Sec. nº: 87, 88 o 89; o (b) una cadena ligera y una cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 118 y Id. de Sec. nº: 125, respectivamente; Id. de Sec. nº: 118 y Id. de Sec. nº: 126, respectivamente; o Id. de Sec. nº: 118 y Id. de Sec. nº: 127, respectivamente;
- un vector que comprende un polinucleótido de acuerdo con la invención, preferiblemente un vector de expresión, más preferiblemente un vector que comprende el polinucleótido de acuerdo con la invención en asociación funcional con una secuencia de control de la expresión;
- una célula huésped que comprende un polinucleótido de acuerdo con la invención y/o un vector de acuerdo con la invención;
- un método para la producción de un anticuerpo anti-IL-36R o un fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la

invención, preferiblemente un método de producción recombinante que comprende el uso de un polinucleótido de acuerdo con la invención, y/o de un vector de acuerdo con la invención y/o de una célula huésped de acuerdo con la invención;

- dicho método comprende preferiblemente los pasos (a) cultivar la célula huésped en condiciones que permitan la expresión del anticuerpo anti-IL-36R o fragmento de unión a antígeno y (b) recuperar el anticuerpo anti-IL-36R o fragmento de unión a antígeno;

- un kit de diagnóstico que comprende el anticuerpo anti-IL-36R o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la invención;

- un kit de diagnóstico de acuerdo con la invención, para usar en un método de diagnóstico in vivo de una enfermedad inflamatoria, una enfermedad autoinmune, una enfermedad respiratoria, un trastorno metabólico, un trastorno inflamatorio mediado por el epitelio, fibrosis, cáncer, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, EPOC, asma crónica, esponja anquilosante dilitis o enfermedad de Crohn;

- un método de diagnóstico ex vivo que comprende el uso del anticuerpo anti-IL-36R o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la invención;

- un método de diagnóstico ex vivo de acuerdo con la invención, para el diagnóstico de una enfermedad inflamatoria, una enfermedad autoinmune, una enfermedad respiratoria, un trastorno metabólico, un trastorno inflamatorio mediado por el epitelio, fibrosis, cáncer, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis psoriásica, múltiple esclerosis, artritis reumatoide, EPOC, asma crónica, espondilitis anquilosante o enfermedad de Crohn.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: los ligandos antagonistas de IL-36 (IL-36RA/IL1F5, IL-38/ILF10) inhiben la cascada de señalización.

Figura 2: Los análisis de chips genéticos demuestran que los ligandos IL-36R están regulados positivamente en la piel psoriásica (IL-36 RA, IL-36 α e IL-36 γ).

Figura 3: Perfil de expresión utilizando secciones de piel humana. Parafina fijada en formalina embebida con titulaciones de anticuerpos usando el anticuerpo 33D10

Figura 4: Método para evaluar el grosor epidérmico de secciones de piel humana

Descripción de la invención

Esta invención se refiere a anticuerpos anti-IL-36R. En un aspecto, los anticuerpos de la presente invención son para uso diagnóstico y terapéutico, por ejemplo, en humanos.

La presente invención proporciona anticuerpos que se unen a IL-36R, en particular IL-36R humano. La presente invención también se refiere a anticuerpos humanizados que se unen a IL-36R. En realizaciones específicas, la secuencia de estos anticuerpos humanizados se ha identificado en base a las secuencias de ciertos anticuerpos líder de ratón.

Sin desear vincularse a esta teoría, se cree que los anticuerpos anti-IL-36R o sus fragmentos de unión a antígeno se unen a la IL-36R humana y, por lo tanto, interfieren con la unión de los agonistas de IL-36, y al hacerlo bloquean al menos parcialmente la cascada de señalización de la IL-36R a mediadores inflamatorios. Esto se ilustra en la Figura 1.

En un aspecto, los anticuerpos de la presente invención son para uso en modelos de enfermedad humana. IL-36R también se conoce como IL-1RL2 e IL-1Rrp2. Se ha informado que los ligandos agonistas de IL-36 (α , β o γ) inician la cascada de señalización activando el receptor de IL-36 que luego forma un heterodímero con la proteína accesoria del receptor de IL-1 (IL-1 RAcP). Los ligandos antagonistas de IL-36 (IL-36RA/IL1F5, IL-38/ILF10) inhiben la cascada de señalización (ver figura 1).

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención tiene una alta potencia de unión molecular/celular. En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención se une al IL-36R humano a una $K_D < 0,1$ nM. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención, en particular un anticuerpo anti-IL-36R humanizado, se une al IL-36R humano a una $K_D < 50$ pM. En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención se une a células que expresan IL-36R a una $CE_{90} < 5$ nM.

En otro aspecto, un anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención tiene una alta potencia de bloqueo funcional basada en células. En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención bloquea los tres ligandos agonistas de IL-36R (α , β , γ) a un $CI_{90} \leq 5$ nM, en líneas celulares relevantes para la enfermedad y células primarias.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención tiene la potencia de unión molecular/celular y la potencia de bloqueo funcional basada en células expuesta anteriormente.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención es un anticuerpo humanizado. En un aspecto, un

anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención es un anticuerpo monoclonal. En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención es un anticuerpo de longitud completa. En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-36R de la presente invención es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa.

Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención reconoce el "epítipo de antígeno IL-36R" específico o el "epítipo IL-36R". Como se usa en el presente documento, estos términos se refieren a una molécula (por ejemplo, un péptido) o un fragmento de una molécula capaz de inmunoreactividad con un anticuerpo anti-IL-36R.

Los epítopos son más comúnmente proteínas, oligopéptidos cortos, imitadores de oligopéptidos (es decir, compuestos orgánicos que imitan las propiedades de unión a anticuerpos del antígeno IL-36R), o combinaciones de los mismos. Se cree que el tamaño mínimo de un epítipo de péptido o polipéptido para un anticuerpo es de aproximadamente cuatro a cinco aminoácidos. Los epítopos de péptidos o polipéptidos contienen, por ejemplo, al menos siete aminoácidos o, por ejemplo, al menos nueve aminoácidos o, por ejemplo, entre aproximadamente 15 y aproximadamente 20 aminoácidos. Dado que un anticuerpo puede reconocer un péptido o polipéptido antigénico en su forma terciaria, los aminoácidos que comprenden un epítipo no necesitan ser contiguos y, en algunos casos, incluso pueden no estar en la misma cadena peptídica. Los epítopos pueden determinarse mediante diversas técnicas conocidas en la técnica, tales como cristalografía de rayos X, espectrometría de masas de intercambio de hidrógeno/deuterio (HXMS), mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis de exploración de alanina y métodos de detección de péptidos.

La estructura generalizada de anticuerpos o inmunoglobulina es bien conocida por los expertos en la materia. Estas moléculas son glucoproteínas heterotetraméricas, típicamente de aproximadamente 150.000 daltons, compuestas de dos cadenas ligeras (L) idénticas y dos cadenas pesadas (H) idénticas y típicamente se conocen como anticuerpos de longitud completa. Cada cadena ligera se une covalentemente a una cadena pesada mediante un enlace disulfuro para formar un heterodímero, y la molécula heterotetramérica se forma a través de un enlace disulfuro covalente entre las dos cadenas pesadas idénticas de los heterodímeros. Aunque las cadenas ligera y pesada están unidas por un enlace disulfuro, el número de enlaces disulfuro entre las dos cadenas pesadas varía según el isotipo de inmunoglobulina. Cada cadena pesada y ligera también tiene puentes disulfuro intracadena regularmente espaciados. Cada cadena pesada tiene en el extremo amino un dominio variable (V_H), seguido de tres o cuatro dominios constantes (C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} y C_{H4}), así como una región bisagra entre C_{H1} y C_{H2} . Cada cadena ligera tiene dos dominios, un dominio variable aminoterminal (V_L) y un dominio constante carboxiterminal (C_L). El dominio V_L se asocia de forma no covalente con el dominio V_H , mientras que el dominio C_L está comúnmente unido covalentemente al dominio C_{H1} a través de un enlace disulfuro. Se cree que los residuos de aminoácidos particulares forman una interfaz entre los dominios variables de la cadena ligera y pesada (Chothia et al., 1985, J. Mol. Biol. 186: 651-663). Los dominios variables también se denominan aquí como regiones variables.

Ciertos dominios dentro de los dominios variables difieren ampliamente entre diferentes anticuerpos, es decir, son "hipervariables". Estos dominios hipervariables contienen residuos que están directamente involucrados en la unión y especificidad de cada anticuerpo particular para su determinante antigénico específico. La hipervariabilidad, tanto en los dominios variables de la cadena ligera como de la cadena pesada, se concentra en tres segmentos conocidos como regiones determinantes de complementariedad (CDR) o bucles hipervariables (HVL). Las CDR se definen por comparación de secuencias en Kabat et al., 1991, en: Secuencias de proteínas de interés inmunológico, 5ª ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., Mientras que las HVL (también denominadas en este documento CDR) se definen estructuralmente de acuerdo con la estructura tridimensional del dominio variable, según lo descrito por Chothia y Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196: 901-917. Estos dos métodos dan como resultado identificaciones ligeramente diferentes de un CDR. Según lo definido por Kabat, CDR-L1 se coloca en aproximadamente los residuos 24-34, CDR-L2, en aproximadamente los residuos 50-56, y CDR-L3, en aproximadamente los residuos 89-97 en el dominio variable de la cadena ligera; CDR-H1 se coloca en aproximadamente los residuos 31-35, CDR-H2 en aproximadamente los residuos 50-65 y CDR-H3 en aproximadamente los residuos 95-102 en el dominio variable de la cadena pesada. Los números exactos de residuos que abarcan una CDR particular variarán dependiendo de la secuencia y el tamaño de la CDR. Los expertos en la materia pueden determinar rutinariamente qué residuos comprenden una CDR particular dada la secuencia de aminoácidos de la región variable del anticuerpo. Los CDR1, CDR2, CDR3 de las cadenas pesadas y ligeras, por lo tanto, definen las propiedades únicas y funcionales específicas para un anticuerpo dado.

Las tres CDR dentro de cada una de las cadenas pesada y ligera están separadas por regiones marco (FR), que contienen secuencias que tienden a ser menos variables. Desde el terminal amino hasta el terminal carboxi de los dominios variables de la cadena pesada y ligera, las FR y CDR están dispuestas en el orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. La configuración en gran parte de la hoja β de las FR hace que las CDR dentro de cada una de las cadenas estén muy próximas entre sí, así como a las CDR de la otra cadena. La conformación resultante contribuye al sitio de unión al antígeno (ver Kabat et al., 1991, NIH Publ. No. 91-3242, Vol. I, páginas 647-669), aunque no todos los residuos de CDR están necesariamente involucrados directamente en la unión al antígeno.

Los residuos FR y los dominios constantes de Ig no están directamente implicados en la unión al antígeno, pero

contribuyen a la unión al antígeno y/o median la función efectora del anticuerpo. Se cree que algunos residuos de FR tienen un efecto significativo sobre la unión al antígeno de al menos tres formas: al unirse de manera no covalente directamente a un epítipo, al interactuar con uno o más residuos de CDR y al afectar la interfaz entre las cadenas pesadas y ligeras. Los dominios constantes no están directamente involucrados en la unión al antígeno, pero median varias funciones efectoras de Ig, como la participación del anticuerpo en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP).

Las cadenas ligeras de las inmunoglobulinas de vertebrados se asignan a una de dos clases claramente distintas, kappa (κ) y lambda (λ), en base a la secuencia de aminoácidos del dominio constante. En comparación, las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas de mamíferos se asignan a una de las cinco clases principales, de acuerdo con la secuencia de los dominios constantes: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. IgG e IgA se dividen además en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2. Los dominios constantes de la cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan α , δ , ϵ , γ y μ , respectivamente. Las estructuras de subunidades y las configuraciones tridimensionales de las clases de inmunoglobulinas nativas son bien conocidas.

Los términos "anticuerpo", "anticuerpo anti-IL-36R", "anticuerpo anti-IL-36R humanizado", "anticuerpo epítipo anti-IL-36R humanizado" y "variante de anticuerpo epítipo anti-IL-36R humanizado" abarca específicamente anticuerpos monoclonales (incluidos anticuerpos monoclonales de longitud completa), anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) y fragmentos de anticuerpos tales como dominios variables y otras porciones de anticuerpos que exhiben una actividad biológica deseada, por ejemplo, la unión de IL-36R. El término "anticuerpo monoclonal" (mAb) se refiere a un anticuerpo que es altamente específico, dirigido contra un único determinante antigénico, un "epítipo". Por lo tanto, el modificador "monoclonal" es indicativo de anticuerpos dirigidos al epítipo idéntico y no debe interpretarse como que requiere la producción del anticuerpo por ningún método particular. Debe entenderse que los anticuerpos monoclonales pueden fabricarse mediante cualquier técnica o metodología conocida en la técnica; incluyendo, por ejemplo, el método de hibridoma (Kohler et al., 1975, Nature 256: 495), o métodos de ADN recombinante conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos Núm. 4.816.567), o métodos de aislamiento de monoclonales producidos recombinantemente usando bibliotecas de anticuerpos de fagos, usando técnicas descritas en Clackson et al., 1991, Nature 352: 624-628, y Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222: 581-597.

El término "monómero" se refiere a una forma homogénea de un anticuerpo. Por ejemplo, para un anticuerpo de longitud completa, monómero significa un anticuerpo monomérico que tiene dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas.

Los anticuerpos quiméricos consisten en las regiones variables de la cadena pesada y ligera de un anticuerpo de una especie (por ejemplo, un mamífero no humano como un ratón) y las regiones constantes de la cadena pesada y ligera de otra especie (por ejemplo, el anticuerpo humano) y puede obtenerse uniendo las secuencias de ADN que codifican las regiones variables del anticuerpo de la primera especie (por ejemplo, ratón) a las secuencias de ADN para las regiones constantes del anticuerpo de la segunda especie (por ejemplo, humano) y transformando un huésped con un vector de expresión que contiene las secuencias enlazadas para permitirle producir un anticuerpo quimérico. Alternativamente, el anticuerpo quimérico también podría ser uno en el que una o más regiones o dominios de la cadena pesada y/o ligera es idéntica, homóloga o una variante de la secuencia correspondiente en un anticuerpo monoclonal de otra clase de inmunoglobulina o isotipo, o de un consenso o secuencia de línea germinal. Los anticuerpos quiméricos pueden incluir fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que el fragmento de anticuerpo exhiba la actividad biológica deseada de su anticuerpo original, por ejemplo, que se une al mismo epítipo (véase, por ejemplo, la patente de los Estados Unidos N° 4.816.567; y Morrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855).

Los términos "fragmento de anticuerpo", "fragmento de anticuerpo anti-IL-36R", "fragmento de anticuerpo epítipo anti-IL-36R", "fragmento de anticuerpo anti-IL-36R humanizado", "fragmento de anticuerpo epítipo anti-IL-36R humanizado", "variante del fragmento de anticuerpo epítipo anti-IL-36R humanizado" se refiere a una porción de un anticuerpo anti-IL-36R de longitud completa, en el que se retiene una región variable o una capacidad funcional, por ejemplo, unión del epítipo IL-36R específico. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen, entre otros, un fragmento Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, Fv, scFv y scFv-Fc, un diacuerpo, un anticuerpo lineal, un anticuerpo de cadena sencilla, un minicuerpo, un diacuerpo formado a partir de fragmentos de anticuerpos y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos.

Los anticuerpos de longitud completa pueden tratarse con enzimas tales como papaína o pepsina para generar fragmentos de anticuerpos útiles. La digestión con papaína se usa para producir dos fragmentos de anticuerpos de unión a antígeno idénticos llamados fragmentos "Fab", cada uno con un único sitio de unión a antígeno y un fragmento "Fc" residual. El fragmento Fab también contiene el dominio constante de la cadena ligera y el dominio C_{H1} de la cadena pesada. El tratamiento con pepsina produce un fragmento F(ab')₂ que tiene dos sitios de unión a antígeno y aún es capaz de reticular el antígeno.

Los fragmentos Fab' difieren de los fragmentos Fab por la presencia de residuos adicionales que incluyen una o más

cisteínas de la región bisagra del anticuerpo en el extremo C-terminal del dominio C_{H1} . Los fragmentos de anticuerpo $F(ab')_2$ son pares de fragmentos Fab' unidos por residuos de cisteína en la región bisagra. También se conocen otros acoplamientos químicos de fragmentos de anticuerpos.

5 El fragmento "Fv" contiene un sitio completo de reconocimiento y unión al antígeno que consiste en un dímero de un dominio variable de cadena pesada y uno ligero en asociación estrecha, no covalente. En esta configuración, las tres CDR de cada dominio variable interactúan para definir un sitio de fijación de antígeno en la superficie del dímero V_H - V_L . Colectivamente, las seis CDR confieren especificidad de unión al antígeno al anticuerpo.

10 Un fragmento de anticuerpo "Fv de cadena sencilla" o "scFv" es una variante de Fv de cadena sencilla que comprende los dominios V_H y V_L de un anticuerpo donde los dominios están presentes en una cadena polipeptídica única. La cadena simple Fv es capaz de reconocer y unirse al antígeno. El polipéptido scFv también puede contener opcionalmente un conector polipeptídico colocado entre los dominios V_H y V_L para facilitar la formación de una estructura tridimensional deseada para la unión al antígeno por el scFv (véase, por ejemplo, Pluckthun, 1994, en *The Pharmacology of monoclonal Antibodies*, Vol. 113, Rosenberg y Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, pp. 269-315).

15 Un "diacuerpo" se refiere a pequeños fragmentos de anticuerpos con dos sitios de unión a antígeno, cuyos fragmentos comprenden un dominio variable de cadena pesada (V_H) conectado a un dominio variable de cadena ligera (V_L) en la misma cadena polipeptídica (V_H - V_L o V_L - V_H). Los diacuerpos se describen más completamente en, por ejemplo, Holliger et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos* 90: 6444-6448.

20 Otros fragmentos de anticuerpos reconocidos incluyen aquellos que comprenden un par de segmentos Fd en tándem (V_H - C_{H1} - V_H - C_{H1}) para formar un par de regiones de unión a antígeno. Estos "anticuerpos lineales" pueden ser biespecíficos o monoespecíficos como se describe en, por ejemplo, Zapata et al. 1995, *Protein Eng.* 8 (10): 1057-1062.

25 Un "anticuerpo humanizado" o un "fragmento de anticuerpo humanizado" es un tipo específico de anticuerpo químico que incluye una variante de secuencia de aminoácidos de inmunoglobulina, o fragmento del mismo, que es capaz de unirse a un antígeno predeterminado y que comprende una o más FR que tienen sustancialmente la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina humana y una o más CDR que tienen sustancialmente la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina no humana. Esta secuencia de aminoácidos no humana a menudo denominada secuencia de "importación" se toma típicamente de un dominio de anticuerpo de "importación", particularmente un dominio variable. En general, un anticuerpo humanizado incluye al menos las CDR o HVL de un anticuerpo no humano, insertado entre las FR de un dominio variable de cadena ligera o pesada humana. La presente invención describe anticuerpos anti-IL-36R humanizados específicos que contienen CDR derivados de los anticuerpos monoclonales de ratón o CDR humanizados insertados entre las FR de los dominios variables de cadena pesada y ligera de la secuencia de la línea germinal humana. Se entenderá que ciertos residuos de FR de ratón pueden ser importantes para la función de los anticuerpos humanizados y, por lo tanto, algunos de los residuos de dominios variables de la cadena germinal pesada y ligera de la secuencia de la línea germinal humana se modifican para que sean los mismos que los de la secuencia de ratón correspondiente.

30 En otro aspecto, un anticuerpo anti-IL-36R humanizado comprende sustancialmente todos al menos uno, y típicamente dos dominios variables (como los contenidos, por ejemplo, en Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fabc y fragmentos Fv) en los que todas, o sustancialmente todas, las CDR corresponden a las de una inmunoglobulina no humana, y específicamente en el presente documento, todas las CDR son secuencias de ratón o humanizadas como se detalla a continuación y todas, o sustancialmente todas, las FR son de un consenso de inmunoglobulina humana o secuencia de línea germinal. En otro aspecto, un anticuerpo anti-IL-36R humanizado también incluye al menos una porción de una región Fc de inmunoglobulina, típicamente la de una inmunoglobulina humana. Normalmente, el anticuerpo contendrá tanto la cadena ligera como al menos el dominio variable de una cadena pesada. El anticuerpo también puede incluir una o más de las regiones C_{H1} , bisagra, C_{H2} , C_{H3} y/o C_{H4} de la cadena pesada, según sea apropiado.

35 Se puede seleccionar un anticuerpo anti-IL-36R humanizado de cualquier clase de inmunoglobulinas, que incluyen IgM, IgG, IgD, IgA e IgE, y cualquier isotipo, que incluye IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂. Por ejemplo, el dominio constante puede ser un dominio constante de fijación del complemento donde se desea que el anticuerpo humanizado exhiba actividad citotóxica, y el isotipo es típicamente IgG₁. Cuando dicha actividad citotóxica no es deseable, el dominio constante puede ser de otro isotipo, por ejemplo, IgG₂. Un anticuerpo anti-IL-36R humanizado alternativo puede comprender secuencias de más de una clase o isotipo de inmunoglobulina, y la selección de dominios constantes particulares para optimizar las funciones efectoras deseadas está dentro de la habilidad ordinaria en la técnica. En realizaciones específicas, la presente invención proporciona anticuerpos que son anticuerpos IgG₁ y, más particularmente, son anticuerpos IgG₁ en los que hay una desactivación de las funciones efectoras.

40 Las FR y CDR, o HVL, de un anticuerpo anti-IL-36R humanizado no necesitan corresponder exactamente a las secuencias parentales. Por ejemplo, uno o más residuos en la CDR de importación, o HVL, o la secuencia FR de consenso o de línea germinal pueden estar alteradas (por ejemplo, mutagenizadas) mediante sustitución, inserción o delección de manera que el residuo de aminoácido resultante ya no sea idéntico al residuo original en la posición

correspondiente en cualquiera de las secuencias parentales, pero el anticuerpo, sin embargo, conserva la función de unirse a IL-36R. Dicha alteración típicamente no será extensa y serán alteraciones conservadoras. Por lo general, al menos el 75% de los residuos de anticuerpos humanizados corresponderán a los del consenso parental o la línea germinal FR y secuencias de CDR importadas, más a menudo al menos el 90%, y con mayor frecuencia más del 95%, o más del 98% o más que 99%

Los residuos de inmunoglobulina que afectan la interfaz entre las regiones variables de la cadena pesada y ligera ("la interfaz V_L-V_H ") son aquellos que afectan la proximidad u orientación de las dos cadenas entre sí. Ciertos residuos que pueden estar involucrados en las interacciones entre cadenas incluyen los residuos V_L 34, 36, 38, 44, 46, 87, 89, 91, 96 y 98 y los residuos V_H 35, 37, 39, 45, 47, 91, 93, 95, 100 y 103 (utilizando el sistema de numeración establecido en Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987)). Pat. U.S. n° 6.407.213 también discute que los residuos tales como los residuos V_L 43 y 85, y los residuos V_H 43 y 60 también pueden estar involucrados en esta interacción. Si bien estos residuos están indicados solo para IgG humana, son aplicables en todas las especies. Los residuos de anticuerpos importantes que se espera que participen razonablemente en interacciones entre cadenas se seleccionan para su sustitución en la secuencia de consenso.

Los términos "secuencia de consenso" y "anticuerpo de consenso" se refieren a una secuencia de aminoácidos que comprende el residuo de aminoácido más frecuente en cada ubicación en todas las inmunoglobulinas de cualquier clase particular, isotipo o estructura de subunidad, por ejemplo, un humano dominio variable de inmunoglobulina. La secuencia de consenso puede basarse en inmunoglobulinas de una especie particular o de muchas especies. Se entiende que una secuencia, estructura o anticuerpo de "consenso" abarca una secuencia humana de consenso como se describe en ciertas realizaciones, y se refiere a una secuencia de aminoácidos que comprende los residuos de aminoácidos que ocurren con más frecuencia en cada ubicación en todas las inmunoglobulinas humanas de cualquier clase particular, isotipo o estructura de subunidad. Por lo tanto, la secuencia de consenso contiene una secuencia de aminoácidos que tiene en cada posición un aminoácido que está presente en una o más inmunoglobulinas conocidas, pero que puede no duplicar exactamente la secuencia de aminoácidos completa de una sola inmunoglobulina. La secuencia consenso de la región variable no se obtiene de ningún anticuerpo o inmunoglobulina producido naturalmente. Kabat et al., 1991, *Secuencias de proteínas de interés inmunológico*, 5ª ed. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, Maryland, y sus variantes.

Las secuencias de la línea germinal humana se encuentran naturalmente en la población humana. Una combinación de esos genes de línea germinal genera diversidad de anticuerpos. Las secuencias de anticuerpos de la línea germinal para la cadena ligera del anticuerpo provienen de los genes v y genes j conservados de la línea germinal humana kappa o lambda. De manera similar, las secuencias de la cadena pesada provienen de los genes v , d y j de la línea germinal (LeFranc, M-P y LeFranc, G, "The Immunoglobulin Facts Book" Academic Press, 2001).

Como se usa en el presente documento, "variante", "variante anti-IL-36R", "variante anti-IL-36R humanizada" o "variante humanizada anti-IL-36R" se refieren cada uno a un anticuerpo anti-IL-36R humanizado que tiene al menos una CDR murina variable de cadena ligera. Las variantes incluyen aquellas que tienen uno o más cambios de aminoácidos en uno o ambos dominios variables de cadena ligera o cadena pesada, siempre que el cambio de aminoácido no perjudique sustancialmente la unión del anticuerpo a IL-36R.

Un anticuerpo "aislado" es uno que ha sido identificado y separado y/o recuperado de un componente de su entorno natural. Los componentes contaminantes del entorno natural del anticuerpo son aquellos materiales que pueden interferir con los usos diagnósticos o terapéuticos del anticuerpo, y pueden ser enzimas, hormonas u otros solutos proteicos o no proteicos. En un aspecto, el anticuerpo se purificará con al menos más del 95% de aislamiento en peso de anticuerpo.

Un anticuerpo aislado incluye un anticuerpo in situ dentro de las células recombinantes en las que se produce, ya que al menos un componente del entorno natural del anticuerpo no estará presente. Sin embargo, ordinariamente, se preparará un anticuerpo aislado mediante al menos una etapa de purificación en la que se elimina el material celular recombinante.

El término "rendimiento de anticuerpos" se refiere a factores que contribuyen al reconocimiento de anticuerpos del antígeno o la efectividad de un anticuerpo in vivo. Los cambios en la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo pueden afectar las propiedades del anticuerpo, como el plegamiento, y pueden influir en factores físicos como la tasa inicial de unión del anticuerpo al antígeno (k_a), la constante de disociación del anticuerpo del antígeno (k_d), la constante de afinidad t del anticuerpo para el antígeno (K_d), conformación del anticuerpo, estabilidad de la proteína y vida media del anticuerpo.

El término "epítipo marcado" cuando se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo anti-IL-36R fusionado a una "etiqueta de epítipo". Una "etiqueta de epítipo" es un polipéptido que tiene un número suficiente de aminoácidos para proporcionar un epítipo para la producción de anticuerpos, pero está diseñado de tal manera que no interfiere con la actividad deseada del anticuerpo anti-IL-36R humanizado. La etiqueta de epítipo suele ser lo suficientemente única como para que un anticuerpo generado contra la etiqueta de epítipo no reaccione de forma sustancial con otros epítopos. Los polipéptidos de etiqueta adecuados generalmente contienen al menos 6 residuos

de aminoácidos y generalmente contienen de aproximadamente 8 a 50 residuos de aminoácidos, o aproximadamente de 9 a 30 residuos. Los ejemplos de etiquetas de epítipo y el anticuerpo que se une al epítipo incluyen el polipéptido de etiqueta HA de gripe y su anticuerpo 12CA5 (Field et al., 1988 Mol. Cell. Biol. 8: 2159-2165; etiqueta c-myc y anticuerpos 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 y 9E10 del mismo (Evan et al., 1985, Mol. Cell. Biol. 5 (12): 3610-3616; y la etiqueta de la glucoproteína D (gD) del virus del herpes simple y su anticuerpo (Paborsky et al. 1990, Protein Engineering 3 (6): 547-553). En ciertas realizaciones, la etiqueta de epítipo es un "epítipo de unión al receptor salvaje". Como se usa en el presente documento, el término "epítipo de unión al receptor salvaje" se refiere a un epítipo de la región Fc de una molécula de IgG (como IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4) que es responsable de aumentar la vida media en suero in vivo de la molécula de IgG.

En algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención pueden conjugarse con un agente citotóxico. Este es cualquier sustancia que inhibe o previene la función de las células y/o causa la destrucción de las células. El término pretende incluir isótopos radiactivos (como I131, I125, Y90 y Re186), agentes quimioterapéuticos y toxinas tales como toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, y fragmentos de las mismas. Dichos agentes citotóxicos se pueden acoplar a los anticuerpos humanizados de la presente invención usando procedimientos estándar, y usarse, por ejemplo, para tratar a un paciente indicado para terapia con el anticuerpo.

Un "agente quimioterapéutico" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Existen numerosos ejemplos de agentes quimioterapéuticos que podrían conjugarse con los anticuerpos terapéuticos de la presente invención. Los ejemplos de tales agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida; alquil sulfonatos tales como busulfano, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carboquona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas que incluyen altretamina, trietilenomelamina, trietilenfosforamida, trietilenfosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bullatacina y bullatacinona); camptotecina (incluido el análogo sintético topotecan); briostatina; callistatina; CC-1065 (incluidos sus análogos sintéticos de adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina, auristatinas (incluidos los análogos monometil-auristatina E y monometil-auristatina F); duocarmicina (incluidos los análogos sintéticos, KW-2189 y CBI-TMI); eleuterobina; pancratistatina; sarcodictina; espongistatina; mostazas nitrogenadas tales como clorambucilo, cloromafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalan, novembichina, fenesterina, prednimustina; trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos como los antibióticos enedine (por ejemplo, calicheamicina, especialmente calicheamicina gamma11 y calicheamicina fil1, véase, por ejemplo, Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33: 183-186; dinemicina, incluida la dinemicina A; bifosfonatos, como el clodronato; esperamicina; así como cromóforo de neocarzinostatina y cromomóforos de antibiótico enedinino cromoproteína relacionados), aclacinomisininas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, caminomocina, carzinofilina, cromomicinas, dactorubicina, dactorubicina, dactorubicina, dactorubicina (Adriamicina TM) (incluyendo morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina y desoxidoxorrubicina), epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; antimetabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiampirina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos su ch como calusterona, propionato de dromostanolona, epitiofanol, mepitiofanol, testolactona; anti-adrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reabastecedor de ácido fólico tal como ácido frofínico; aceglatona; aldofosfamida glucósido; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucil; bisantreno; edatraxato; defofamina; democolcina; diaziquona; elfomitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglucid; nitrato de galio; hidroxiaurea; lentinan lonidamina; maitansinoides tales como maytansina y ansamitocinas; mitoguazona, mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; phenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; PSK®; razoxano; rizoxina; sizofurano; spirogermanium; ácido tenuazónico; triaziquona; 2,2',2"-trichlorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; mannomustina; mitabronitol; mitolactol; pipobroman; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por ejemplo, paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ) y doxetaxel (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, Francia); clorambucilo; gemcitabina (Gemzar TM); 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino como cisplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina Navelbine TM); novantrona; teniposida; edatrexato, daunomicina, aminopterina, xeloda, ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides como el ácido retinoico; capecitabina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. También se incluyen en esta definición los agentes anti-hormonales que actúan para regular o inhibir la acción hormonal en tumores como antiestrógenos y moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (SERM), que incluyen, por ejemplo, tamoxifeno (incluido Nolvadex TM), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y toremifeno (Fareston TM); inhibidores de la aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógenos en las glándulas suprarrenales, como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, acetato de megestrol (Megace TM), exemestano, formestano, fadrozol, vorozol (Rivisor TM), letrozol (Femara TM) y anastrozol (Arimidex TM); y antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de

cualquiera de los anteriores. Cualquiera o más de estos agentes pueden conjugarse con los anticuerpos humanizados de la presente invención para proporcionar un agente terapéutico útil para el tratamiento de diversos trastornos.

Los anticuerpos también pueden conjugarse con profármacos. Un "profármaco" es una forma precursora o derivada de una sustancia farmacéuticamente activa que es menos citotóxica para las células tumorales en comparación con el fármaco original y es capaz de activarse enzimáticamente o convertirse en la forma más activa. Ver, por ejemplo, Wilman, 1986, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy", In Biochemical Society Transactions, 14, pp. 375-382, 615ª Reunión Belfast y Stella et al., 1985, "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery"., En: "Directed Drug Delivery, Borchardt et al., (Ed.), Pp. 247-267, Humana Press. Los profármacos útiles incluyen, pero no se limitan a, profármacos que contienen fosfato, profármacos que contienen tiofosfato, profármacos que contienen sulfato, profármacos que contienen péptidos, profármacos modificados con D-aminoácidos, profármacos glicosilados, profármacos que contienen lactama β , que contienen fenoxiacetamida opcionalmente sustituida, profármacos y profármacos que contienen fenilacetamida opcionalmente sustituidos, 5-fluorocitosina y otros profármacos de 5-fluorouridina que pueden convertirse en el fármaco libre citotóxico más activo. Los ejemplos de fármacos citotóxicos que pueden derivatizarse en forma de profármaco incluyen, entre otros, aquellos agentes quimioterapéuticos descritos anteriormente.

Para fines de monitorización diagnóstica y terapéutica, los anticuerpos de la invención también pueden conjugarse a un marcador, ya sea un marcador solo o un marcador y un segundo agente adicional (profármaco, agente quimioterapéutico y similares). Un marcador, a diferencia de los otros segundos agentes, se refiere a un agente que es un compuesto o composición detectable y puede conjugarse directa o indirectamente a un anticuerpo humanizado de la presente invención. El marcador en sí mismo puede ser detectable (por ejemplo, marcadores de radioisótopos o marcadores fluorescentes) o, en el caso de un marcador enzimático, puede catalizar la alteración química de un compuesto o composición de sustrato que es detectable. El anticuerpo anti-IL-36R humanizado marcado puede prepararse y usarse en diversas aplicaciones, incluyendo diagnósticos in vitro e in vivo.

Los anticuerpos de la presente invención pueden formularse como parte de una preparación liposómica para afectar la administración de los mismos in vivo. Un "liposoma" es una pequeña vesícula compuesta de varios tipos de lípidos, fósforo, lípidos y/o tensioactivos. Los liposomas son útiles para la administración a un mamífero de un compuesto o formulación, tal como un anticuerpo anti-IL-36R humanizado descrito aquí, opcionalmente, acoplado o en combinación con uno o más agentes y/o marcadores farmacéuticamente activos. Los componentes del liposoma se disponen comúnmente en una formación de bicapa, similar a la disposición de los lípidos de las membranas biológicas.

Ciertos aspectos de la presente invención se relacionan con ácidos nucleicos aislados que codifican los anticuerpos humanizados o fragmentos de unión a antígeno de la presente invención. Una molécula de ácido nucleico "aislada" es una molécula de ácido nucleico que se identifica y se separa de al menos una molécula de ácido nucleico contaminante con la que normalmente se asocia en la fuente natural del ácido nucleico del anticuerpo. Una molécula de ácido nucleico aislada se distingue de la molécula de ácido nucleico tal como existe en las células naturales.

En varios aspectos de la presente invención, uno o más dominios de los anticuerpos humanizados se expresarán de forma recombinante. Dicha expresión recombinante puede emplear una o más secuencias de control, es decir, secuencias de polinucleótidos necesarias para la expresión de una secuencia codificante unida operativamente en un organismo huésped particular. Las secuencias de control adecuadas para su uso en células procariotas incluyen, por ejemplo, secuencias de promotor, operador y sitio de unión a ribosomas. Las secuencias de control eucariotas incluyen, pero no se limitan a, promotores, señales de poliadenilación y potenciadores. Estas secuencias de control pueden utilizarse para la expresión y producción de anticuerpos anti-IL-36R humanizados en células huésped procariotas y eucariotas.

Una secuencia de ácido nucleico está "operativamente unida" cuando se coloca en una relación funcional con otra secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, una presecuencia de ácido nucleico o líder secretora está operativamente unida a un ácido nucleico que codifica un polipéptido si se expresa como una preproteína que participa en la secreción del polipéptido; un promotor o potenciador está operativamente unido a una secuencia de codificación si afecta la transcripción de la secuencia; o un sitio de unión a ribosomas está operativamente unido a una secuencia de codificación si está posicionado de manera que facilite la traducción. En general, "unido operativamente" significa que las secuencias de ADN que se unen son contiguas y, en el caso de un líder secretor, contiguas y en marco de lectura. Sin embargo, los potenciadores son opcionalmente contiguos. La vinculación se puede lograr mediante la ligación en sitios de restricción convenientes. Si tales sitios no existen, se pueden usar adaptadores o enlazadores de oligonucleótidos sintéticos.

Como se usa en el presente documento, las expresiones "célula", "línea celular" y "cultivo celular" se usan indistintamente y todas tales designaciones incluyen la progenie de las mismas. Por lo tanto, los "transformantes" y las "células transformadas" incluyen la célula principal y los cultivos derivados de ellos sin tener en cuenta el número de transferencias.

El término "mamífero" para fines de tratamiento se refiere a cualquier animal clasificado como mamífero, incluyendo humanos, animales domésticos y de granja, y animales de zoológico, deportivos o mascotas, tales como perros,

caballos, gatos, vacas y similares. Preferiblemente, el mamífero es humano.

Un "trastorno", como se usa en el presente documento, es cualquier condición que se beneficiaría del tratamiento con un anticuerpo anti-IL-36R humanizado descrito en el presente documento. Esto incluye trastornos o enfermedades crónicas y agudas, incluidas aquellas afecciones patológicas que predisponen al mamífero al trastorno en cuestión. Los ejemplos o trastornos no limitantes a tratar en el presente documento incluyen trastornos inflamatorios, angiogénicos, autoinmunes e inmunológicos, trastornos respiratorios, cáncer, neoplasias hematológicas, tumores benignos y malignos, leucemias y neoplasias linfoides.

Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren o describen la condición fisiológica en mamíferos que típicamente se caracteriza por un crecimiento celular no regulado. Los ejemplos de cáncer incluyen, entre otros, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia.

Un trastorno asociado a IL-36R incluye enfermedades y trastornos del sistema inmune, tales como trastornos autoinmunes y trastornos inflamatorios. Dichas afecciones incluyen, entre otras, artritis reumatoide (AR), lupus eritematoso sistémico (LES), esclerodermia, síndrome de Sjogren, esclerosis múltiple, psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad inflamatoria intestinal (por ejemplo, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), inflamación pulmonar, asma, púrpura trombocitopénica inmune (PTI), trastornos inflamatorios epiteliales, fibrosis y espondilitis anquilosante.

El término "infusión intravenosa" se refiere a la introducción de un agente en la vena de un paciente animal o humano durante un período de tiempo superior a aproximadamente 15 minutos, generalmente entre aproximadamente 30 a 90 minutos.

El término "bolo intravenoso" o "empuje intravenoso" se refiere a la administración del fármaco en una vena de un animal o humano de manera que el cuerpo recibe el fármaco en aproximadamente 15 minutos o menos, generalmente 5 minutos o menos.

El término "administración subcutánea" se refiere a la introducción de un agente debajo de la piel de un paciente animal o humano, preferiblemente dentro de un bolsillo entre la piel y el tejido subyacente, mediante un suministro relativamente lento y sostenido desde un receptáculo de fármaco. Pellizcar o estirar la piel hacia arriba y lejos del tejido subyacente puede crear el bolsillo.

El término "infusión subcutánea" se refiere a la introducción de un fármaco debajo de la piel de un paciente animal o humano, preferiblemente dentro de una bolsa entre la piel y el tejido subyacente, mediante un suministro sostenido relativamente lento desde un receptáculo de fármaco durante un período de tiempo. tiempo que incluye, entre otros, 30 minutos o menos, o 90 minutos o menos. Opcionalmente, la infusión se puede realizar mediante la implantación subcutánea de una bomba de administración de medicamentos implantada debajo de la piel del paciente animal o humano, en donde la bomba administra una cantidad predeterminada de medicamento durante un período predeterminado de tiempo, como 30 minutos, 90 minutos, o un período de tiempo que abarca la duración del régimen de tratamiento.

El término "bolo subcutáneo" se refiere a la administración del fármaco debajo de la piel de un paciente animal o humano, donde el suministro de bolo del fármaco es inferior a aproximadamente 15 minutos; en otro aspecto, menos de 5 minutos, y en otro aspecto, menos de 60 segundos. Incluso en otro aspecto, la administración está dentro de un bolsillo entre la piel y el tejido subyacente, donde el bolsillo se puede crear pellizcando o estirando la piel hacia arriba y lejos del tejido subyacente.

El término "cantidad terapéuticamente efectiva" se usa para referirse a una cantidad de un agente activo que alivia o mejora uno o más de los síntomas del trastorno que se está tratando. En otro aspecto, la cantidad terapéuticamente efectiva se refiere a una concentración sérica objetivo que se ha demostrado que es efectiva, por ejemplo, en retrasar la progresión de la enfermedad. La eficacia se puede medir de manera convencional, dependiendo de la condición a tratar.

Los términos "tratamiento" y "terapia" y similares, tal como se usan en el presente documento, pretenden incluir medidas terapéuticas, así como profilácticas o supresoras para una enfermedad o trastorno que conduce a cualquier efecto clínicamente deseable o beneficioso, incluyendo pero no limitado al alivio o alivio de uno o más síntomas, regresión, desaceleración o cese de la progresión de la enfermedad o trastorno. Así, por ejemplo, el término tratamiento incluye la administración de un agente antes o después del inicio de un síntoma de una enfermedad o trastorno, previniendo o eliminando así uno o más signos de la enfermedad o trastorno. Como otro ejemplo, el término incluye la administración de un agente después de la manifestación clínica de la enfermedad para combatir los síntomas de la enfermedad. Además, la administración de un agente después del inicio y después de que los síntomas clínicos se han desarrollado cuando la administración afecta los parámetros clínicos de la enfermedad o trastorno, como el grado de lesión tisular o la cantidad o extensión de metástasis, ya sea que el tratamiento conduzca o no a la mejora de la enfermedad, comprende "tratamiento" o "terapia" como se usa en el presente documento. Además, siempre que las composiciones de la invención, solas o en combinación con otro agente terapéutico, alivien o mejoren al menos un síntoma de un trastorno que se está tratando en comparación con ese síntoma en ausencia del uso de la

composición de anticuerpo anti-IL-36R humanizado, el resultado debe considerarse un tratamiento efectivo del trastorno subyacente, independientemente de si se alivian o no todos los síntomas del trastorno.

- 5 El término "prospecto" se usa para referirse a instrucciones habitualmente incluidas en paquetes comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, uso, administración, contraindicaciones y/o advertencias sobre el uso de dichos productos terapéuticos.

Anticuerpos

- 10 En un aspecto, se describen y presentan en el presente documento anticuerpos anti-IL-36R, en particular anticuerpos anti-IL-36R humanizados, y composiciones y artículos de fabricación que comprenden uno o más anticuerpos anti-IL-36R, en particular uno o más anticuerpos anti-IL-36R humanizados de la presente invención. También se describen agentes de unión que incluyen un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-36, en particular un anticuerpo anti-IL-36R humanizado.

- 15 A continuación, se describen regiones variables y CDR de anticuerpos representativos de la presente invención y anticuerpos de referencia:

Secuencias de anticuerpos anti-IL-36R de ratón

- 20 Las regiones variables y las CDR de los anticuerpos de referencia y el anticuerpo principal de ratón de los anticuerpos de la presente invención (principal de ratón; anticuerpo 81B4) se muestran a continuación:

Secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena ligera (VK)

- 25
- | |
|---|
| > Proteína 33D10B12vK (anticuerpo 33D10) |
| QIVLTQSPAIMASASLGERVTMTCTASSSVSSSYLHWYQKKPGSSPKLWVYSTSNLASGV |
| PVRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQHHRSPVTFGSGTKLEMK (Id. de Sec nº: |
| > Proteína 172C8B12 vK (anticuerpo 172C8) |
| DIQMTQSPASQSASLGESVTFTCLASQTIGTWLAWYQQRPGKSPQLLIYAATSLADGVI |
| RFSGSGSGTQFSFNIRSLQAEDFASYCQVYTTPLTFGGGKLEIK (Id. de Sec nº: 2) |
| > Proteína 67E7E8 vK (anticuerpo 67E7) |
| DIQMTQSPASQSASLGESVTFTCLASQTIGTWLGWYQKPGKSPQLLIYRSTTLADGVP |
| RFSGSGSGTKFSFKISSLQAADFASYCQQLYSAPYTFGGGKLEIR (Id. de Sec nº: 3) |
| > Proteína 78C8D1 vK (anticuerpo 78C8) |
| DVLLTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQNIVHSNGNTYLQWYLQKPGQSPKLLIYKVSNR |
| SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPFTFGAGTKLELK (Id. de Sec nº: 4) |
| > Proteína 81A1D1 vK (anticuerpo 81A1) |
| DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDIYKYNWYQQKPDGTLKLLIYYTSGLHSGVF |
| RFSGSGSGTDFSLTISNLEPEDIATYFCQQDSKFPWTFGGDTKLEIK (Id. de Sec nº: 5) |
| > Proteína 81B4E11 vK (anticuerpo 81B4) |
| QIVLTQSPAIMASASLGERVTMTCTASSSVSSSYFHWYQKPGSSPKLWIYRTSNLASGV |
| GRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQFHRSPLTFGAGTKLELK (Id. de Sec nº: 6) |
| > Proteína 73C5C10 vK (anticuerpo 73C5) |
| DIVMTQSQKFLSTSVGVRVSVTCKASQDVGTNVLWYQQKIGQSPKPLIYSASYRHSGV |
| DRFTGSGSGTDFTLIISNVQSEDLAEYFCQQYSRYPLTFGPGTKLELK (Id. de Sec nº: 7) |

> Proteína 73F6F8 vK (anticuerpo 73F6)
DIVMTQSQKFLSTSVGVRVSVTCKASQDVGTNVLWYQQKIGQSPKALIYSASYRHSGV DRFTGSGSGTDFTLITNVQSEDLAEYFCQQYSRYPLTFGPGTKLELK (Id. de Sec nº: 8)
> Proteína 76E10E8 vK (anticuerpo 76E10)
DIVMTQSQKFMSATVGGRVNITCKASQNVGRAVAWYQQKPGQSPKLLTHSASNRYTC VPDRFTGSGSGTDFTLTTNMQSEDLADYFCQQYSSYPLTFGAGTKLDLK (Id. de Sec nº:
> Proteína 89A12B8 vK (anticuerpo 89A12)
DIQMTQSPASQSASLGESVTFSCLASQTIGTWLGWYQQKPGKSPQLLIYRATSLADGVP RFSGSGSGTNFSEFKISSLQAEDLASYYCQQLYSGPYTFGGGTKLEIR (Id. de Sec nº: 10)

Secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (VH)

> Proteína 33D10B12vH (anticuerpo 33D10)
QVQLQQSGTELLKPGASVKLSCKASGNTVTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGEILPSTGR NYNENFKGKAMLTVDKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYCTIVYFGNPWFAYWGQGTLY TVSA (Id. de Sec nº: 11)
> Proteína 172C8B12 vH (anticuerpo 172C8)
EVQLQQSGPELVKPGASVKLSCKASGYTFTDNVMNWVRQSHGKSLEWIGRVNPSNGI TKYNQNFKGKATLTVDKSLSTAYMQLNGLTSEDSAVYYCGRTKNFYSSYSYDDAMD WGQGTSVTVSS (Id. de Sec nº: 12)
> Proteína 67E7E8 vH (anticuerpo 67E7)
EVQLQQSGAEFVRPGASVKFSCITASGFNIKDDYIHWVRQRPEQGLEWVGRIDPANGNT KYAPKFQDKATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDYAVYYCAKSPNNYYSYDDAFAYWGC GTLVTVSA (Id. de Sec nº: 13)
> Proteína 78C8D1 vH (anticuerpo 78C8)
QVQLKESGPVLVAPSQSLTCTVSGFSLTKFGVHWIRQTPGKGLEWLGVIWAGGPTNY NSALMSRLTISKDISQSQVFLRIDLQTDDTAMYYCAKQIYYSTLVVDYWGQGTSVTVSS (Id. de Sec nº: 14)
> Proteína 81A1D1 vH (anticuerpo 81A1)
QVQLKESGPGLVAPSQSLFITCTVSGFSLSSYEINWVRQVPGKGLEWLGVIWTGITTNY SALISRLSISKDNSKSLVFLKMNSLQTDDTAIYYCARGTGTGFYYAMDYWGQGTSVTV S (Id. de Sec nº: 15)
> Proteína 81B4E11 vH (anticuerpo 81B4)
QVQLQQPGADFVRPGASMRSLCKASGYSTSSWIHWVKQRPGQGLEWIGEINPGNVR NYNENFRNKATLTVDKSSSTAYMQLRSLTSADSAVYYCTVVFYGEPIYFPYWGQGTLY VSA (Id. de Sec nº: 16)

> Proteína 73C5C10 vH (anticuerpo 73C5)	
QVQLKESGPGLVAPSQSLSTCTVSGFSLTNYAVHWVRQFPGKGLEWLGVIWSDGSTD	
NAPFKSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQIDDTAIYYCARKGGYSGSWFAYWGQGTLLTV	
SA (Id. de Sec nº: 17)	
> Proteína 73F6F8 vH (anticuerpo 73F6)	
QVQLKESGPGLVAPSQSLSTCTVSGFSLTNYAVHWVRQFPGKGLEWLGVIWSDGSTD	
NAPFKSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQTDDTAIYYCARKGGYSGSWFAYWGQGTLLTV	
SA (Id. de Sec nº: 18)	
> Proteína 76E10E8 vH (anticuerpo 76E10)	
QVQLKESGPVLVAPSQSLSTCTVSGFSLTNYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWPVGSTN	
NSALMSRLSIHKDNSKSQVFLRMNSLQTDDTAIYYCAKMDWDDFFDYWGQGTLLTVS	
(Id. de Sec nº: 19)	
> Proteína 89A12B8 vH (anticuerpo 89A12)	
EVQLQQSGAELVRPGASVRLSCTASGFNIKDDYIHWRQRPKQGLEWLGRIDPANGN	
KYDPRFQDKATITADTSSNTAYLHLSSLTSEDNAVYYCAKSFPDNYYSYDDAFAYWG	
GTLVTVSA (Id. de Sec nº: 20)	

Secuencias de aminoácidos de la cadena ligera CDR-1 (L-CDR1)

- 5 > 33D10G1 L-CDR1
TASSSVSSSYLH (Id. de Sec. nº: 21)
- > 172C8B 12 L-CDR1
LASQTIGTWLA (Id. de Sec. nº: 22)
- 10 > 67E7E8 L-CDR1
LASQTIGTWLG (Id. de Sec. nº: 23)
- > 78C8D1 L-CDR1
RSSQNIVHSNGNTYLQ (Id. de Sec. nº: 24)
- 15 > 81A1D1 L-CDR1
RASQDIYKYLN (Id. de Sec. nº: 25)
- > 81B4E11 L-CDR1
20 TASSSVSSSYFH (Id. de Sec. nº: 26)
- > 73C5C10 L-CDR1
KASQDVGTNVL (Id. de Sec. nº: 27)
- 25 > 73F6F8 L-CDR1
KASQDVGTNVL (Id. de Sec. nº: 27)
- > 76E10E8 L-CDR1
KASQNVGRAVA (Id. de Sec. nº: 28)
- 30 > 89A12B8 L-CDR1
LASQTIGTWLG (Id. de Sec. nº: 29)

Secuencias de aminoácidos de la cadena ligera CDR-2 (L-CDR2)

- 35 > 33D10B12 L-CDR2

STSNLAS (Id. de Sec. nº: 30)

> 172C8B 12 L-CDR2
AATSLAD (Id. de Sec. nº: 31)

5 > 67E7E8 L-CDR2
RSTTLAD (Id. de Sec. nº: 32)

> 78C8D1 L-CDR2
10 KVSNRFS (Id. de Sec. nº: 33)

> 81A1D1 L-CDR2
YTSGLHS (Id. de Sec. nº: 34)

15 > 81B4E11 L-CDR2
RTSNLAS (Id. de Sec. nº: 35)

> 73C5C10 L-CDR2
20 SASYRHS (Id. de Sec. nº: 36)

> 73F6F8 L-CDR2
SASYRHS (Id. de Sec. nº: 36)

> 76E10E8 L-CDR2
25 SASNRYT (Id. de Sec. nº: 37)

> 89A12B8 L-CDR2
RATSLAD (Id. de Sec. nº: 38)

30 Secuencias de aminoácidos de la cadena ligera CDR-3 (L-CDR3)

> 33D10B12 L-CDR3
HQHHRSPVT (Id. de Sec. nº: 39)

> 172C8B 12 L-CDR3
35 QQVYTTPLT (Id. de Sec. nº: 40)

> 67E7E8 L-CDR3
40 QQLYSAPYT (Id. de Sec. nº: 41)

> 78C8D1 L-CDR3
FQGSHVPFT (Id. de Sec. nº: 42)

> 81A1D1 L-CDR3
45 QQDSKFPWT (Id. de Sec. nº: 43)

> 81B4E11 L-CDR3
HQFHRSPLT (Id. de Sec. nº: 44)

> 73C5C10 L-CDR3
50 QQYSRYPLT (Id. de Sec. nº: 45)

> 73F6F8 L-CDR3
QQYSRYPLT (Id. de Sec. nº: 45)

55 > 76E10E8 L-CDR3
QQYSSYPLT (Id. de Sec. nº: 46)

> 89A12B8 L-CDR3
60 QQLYSGPYT (Id. de Sec. nº: 47)

Secuencias de aminoácidos de la cadena pesada CDR-1 (H-CDR1)

> 33D10B12 H-CDR1
65 GNTVTSYWMH (Id. de Sec. nº: 48)

- > 172C8B 12 H-CDR1
GYTFTDNMYMN (Id. de Sec. nº: 49)
- 5 > 67E7E8 H-CDR1
GFNIKDDYIH (Id. de Sec. nº: 50)
- > 78C8D1 H-CDR1
GFSLTKFGVH (Id. de Sec. nº: 51)
- 10 > 81A1D1 H-CDR1
GFSLSSYEIN (Id. de Sec. nº: 52)
- > 81B4E11 H-CDR1
GYSFTSSWIH (Id. de Sec. nº: 53)
- 15 > 73C5C10 H-CDR1
GFSLTNYAVH (Id. de Sec. nº: 54)
- > 73F6F8 H-CDR1
20 GFSLTNYAVH (Id. de Sec. nº: 54)
- > 76E10E8 H-CDR1
GFSLTNYGVH (Id. de Sec. nº: 55)
- 25 > 89A12B8 H-CDR1
GFNIKDDYIH (Id. de Sec. nº: 56)
- Secuencias de aminoácidos de la cadena pesada CDR-2 (H-CDR2)
- 30 > 33D10B12 H-CDR2
EILPSTGRTNYNENFKG (Id. de Sec. nº: 57)
- > 172C8B 12 H-CDR2
RVNPSNGDTKYNQNFKG (Id. de Sec. nº: 58)
- 35 > 67E7E8 H-CDR2
RIDPANGNTKYAPKFQD (Id. de Sec. nº: 59)
- > 78C8D1 H-CDR2
40 VIWAGGPTNYSALMS (Id. de Sec. nº: 60)
- > 81A1D1 H-CDR2
VIWTGITTNYSALIS (Id. de Sec. nº: 61)
- 45 > 81B4E11 H-CDR2
EINPGNVRTNYNENF (Id. de Sec. nº: 62)
- > 73C5C10 H-CDR2
VIWSDGSTDFNAPFKS (Id. de Sec. nº: 63)
- 50 > 73F6F8 H-CDR2
VIWSDGSTDYNAPFKS (Id. de Sec. nº: 64)
- > 76E10E8 H-CDR2
55 VIWPVGSTNYSALMS (Id. de Sec. nº: 65)
- > 89A12B8 H-CDR2
RIDPANGNTKYDPRFQD (Id. de Sec. nº: 66)
- 60 Secuencias de aminoácidos de la cadena pesada CDR-3 (H-CDR3)
- > 33D10B12 H-CDR3
VYFGNPWFAY (Id. de Sec. nº: 67)
- 65 > 172C8B 12 H-CDR3
TKNFYSSYSYDDAMDY (Id. de Sec. nº: 68)

> 67E7E8 H-CDR3
SFPNNYYSYDDAFAY (Id. de Sec. nº: 69)

5 > 78C8D1 H-CDR3
QIYYSTLVDY (Id. de Sec. nº: 70)

> 81A1D1 H-CDR3
GTGTGFYYAMDY (Id. de Sec. nº: 71)

10 > 81B4E11 H-CDR3
VFYGEPIYPY (Id. de Sec. nº: 72)

> 73C5C10 H-CDR3
15 KGGYSGSWFAY (Id. de Sec. nº: 73)

> 73F6F8 H-CDR3
KGGYSGSWFAY (Id. de Sec. nº: 73)

20 > 76E10E8 H-CDR3
MDWDDFFDY (Id. de Sec. nº: 74)

> 89A12B8 H-CDR3
SFPDNYYSYDDAFAY (Id. de Sec. nº: 75)

25 Secuencias de CDR anti-IL-36R de ratón

A continuación, se muestra un resumen de las secuencias de CDR de los anticuerpos de referencia y el anticuerpo principal de ratón (anticuerpo 81B4) de los anticuerpos de acuerdo con la invención:

Anticuerpos	Secuencias H-CDR	Secuencias L-CDR
33D10	GNTVTSYWMH (H-CDR1) Id. de Sec. nº: 48 EILPSTGRNTYNNENFKG (H-CDR2) Id. de Sec. nº: 57 VYFGNPWFAY (H-CDR3) Id. de Sec. nº: 67	TASSSVSSSYLH (L-CDR1) Id. de Sec. nº: 21 STSNLAS (L-CDR2) Id. de Sec. nº: 30 HQHHRSPVT (L-CDR3) Id. de Sec. nº: 39
172C8	GYTFTDNYMN (H-CDR1) Id. de Sec. nº: 49 RVNPSNGDTKYNQNFKG (H-CDR2) Id. de Sec. nº: 58 TKNFYSSYSYDDAMDY (H-CDR3) Id. de Sec. nº: 68	LASQTIGTWLA (L-CDR1) Id. de Sec. nº: 22 AATSLAD (L-CDR2) Id. de Sec. nº: 31 QQVYTTPLT (L-CDR3) Id. de Sec. nº: 40
67E7	GFSNKKDDYIH (H-CDR1) Id. de Sec. nº: 50 RIDPANGNTKYAPKFQD (H-CDR2) Id. de Sec. nº: 59 SFPNNYYSYDDAFAY (H-CDR3) Id. de Sec. nº: 69	LASQTIGTWLG (L-CDR1) Id. de Sec. nº: 23 RSTTLAD (L-CDR2) Id. de Sec. nº: 32 QQLYSAPYT (L-CDR3) Id. de Sec. nº: 41
78C8	GFSLTKFGVH (H-CDR1) Id. de Sec. nº: 51 VIWAGGPTNYSALMS (H-CDR2) Id. de Sec. nº: 60 QIYYSTLVDY (H-CDR3) Id. de Sec. nº: 70	RSSQNIVHSNGNTYLQ (L-CDR1) Id. de Sec. nº: 24 KVSNRFS (L-CDR2) Id. de Sec. nº: 33 FQGSHPVPT (L-CDR3) Id. de Sec. nº: 42
81A1	GFSLSSEYIN (H-CDR1) Id. de Sec. nº: 52 VIWTGITTYNSALIS (H-CDR2) Id. de Sec. nº: 61 GTGTGFYYAMDY (H-CDR3) Id. de Sec. nº: 71	RASQDIYKYLN (L-CDR1) Id. de Sec. nº: 25 YTSGLHS (L-CDR2) Id. de Sec. nº: 34 QQDSKFPWT (L-CDR3) Id. de Sec. nº: 43
81B4	GYSFTSSWIH (H-CDR1) Id. de Sec. nº: 53 EINPGNVRTNYNENF (H-CDR2) Id. de Sec. nº: 62 VFYGEPIYPY (H-CDR3) Id. de Sec. nº: 72	TASSSVSSSYFH (L-CDR1) Id. de Sec. nº: 26 RTSNLAS (L-CDR2) Id. de Sec. nº: 35 HQFHRSPLT (L-CDR3) Id. de Sec. nº: 44
73C5	GFSLTNYAVH (H-CDR1) Id. de Sec. nº: 54 VIWSDGSTDFNAPFKS (H-CDR2) Id. de Sec. nº: 63 KGGYSGSWFAY (H-CDR3) Id. de Sec. nº: 73	KASQDVGTNVL (L-CDR1) Id. de Sec. nº: 27 SASYRHS (L-CDR2) Id. de Sec. nº: 36 QQYSRYPLT (L-CDR3) Id. de Sec. nº: 45

73F6	GFSLTNYAVH (H-CDR1) Id. de Sec. nº: 54 VIWSDGSTDYNAFES (H-CDR2) Id. de Sec. nº: 64 KGGYSGSWFAY (H-CDR3) Id. de Sec. nº: 73	KASQDVGTNVL (L-CDR1) Id. de Sec. nº: 27 SASYRHS (L-CDR2) Id. de Sec. nº: 36 QQYSRYPLT (L-CDR3) Id. de Sec. nº: 45
76E10	GFSLTNYGVH (H-CDR1) Id. de Sec. nº: 55 VIWPGSTNYNSALMS (H-CDR2) Id. de Sec. nº: 65 MDWDDFFDY (H-CDR3) Id. de Sec. nº: 74	KASQNVGRAVA (L-CDR1) Id. de Sec. nº: 28 SASNRYT (L-CDR2) Id. de Sec. nº: 37 QQYSSYPLT (L-CDR3) Id. de Sec. nº: 46
89A12	GFNIKDDYIH (H-CDR1) Id. de Sec. nº: 56 RIDPANGNTKYDPRFQD (H-CDR2) Id. de Sec. nº: 66 SFPDNYYSYDDAFAY (H-CDR3) Id. de Sec. nº: 75	LASQTIGTWLG (L-CDR1) Id. de Sec. nº: 29 RATSLAD (L-CDR2) Id. de Sec. nº: 38 QQLYSGPYT (L-CDR3) Id. de Sec. nº: 47

Secuencias de anticuerpos humanizados anti-IL-36R

- 5 Se seleccionaron secuencias marco humanas para las derivaciones de ratón en base a la homología del marco, estructura del CDR, residuos canónicos conservados, residuos de empaquetamiento de interfaz conservados y otros parámetros para producir regiones variables humanizadas (ver Ejemplo 5).

Las regiones variables humanizadas representativas derivadas de los anticuerpos 81B4 (anticuerpo principal de ratón de los anticuerpos de la invención) y 73C5 (anticuerpo de referencia) se muestran a continuación.

10

Secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (VK)

> Proteína 81B4vK32_3 vK
EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSTLASGIP RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIK (Id. de Sec. nº: 76)
> Proteína 81B4vK32_105 vK
EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSILASGV RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFATYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIK (Id. de Sec. nº: 77)
> Proteína 81B4vK32_116 vK
EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLWIYRTSRLASGV DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIK (Id. de Sec. nº: 78)
> Proteína 81B4vK32_127 vK
EIVLTQSPGTLSPGERATMTCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSRLASGV DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIK (Id. de Sec. nº: 79)
> Proteína 81B4vK32_138 vK
QIVLTQSPGTLSPGERATMTCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLWIYRTSRLASGV DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPFTFGAGTKLEIK (Id. de Sec. nº: 80)
> Proteína 81B4vK32_140 vK
QIVLTQSPGTLSPGERVTMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSQLASGIP RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIK (Id. de Sec. nº: 81)
> Proteína 81B4vK32_141 vK
QIVLTQSPGTLSPGERATMTCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSKLASGV DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFATYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIK (Id. de Sec. nº: 82)
> Proteína 81B4vK32_147 vK
EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSHLASGIP RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAAVYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIK (Id. de Sec. nº: 83)
> Proteína 73C5vK39_2 vK

EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQDVGTNVLWYQQKPGQAPRPLIYSASYRHSGI DRFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDAEYFCQQYSRYPLTFGQGTKLEIK (Id. de Sec. nº: 84)
> Proteína 73C5vK39_7 vK
EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQDVGTNVLWYQQKPGQAPRPLIYSASYRHSGI DRFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDAVYYCQQYSRYPLTFGQGTKLEIK (Id. de Sec. nº: 85)
> Proteína 73C5vK39_15 vK
EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQDVGTNVLWYQQKPGQAPRPLIYSASYRHSGI ARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDAEYYCQQYSRYPLTFGQGTKLEIK (Id. de Sec. nº: 86)

Secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (VH)

> Proteína 81B4vH33_49 vH
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQAPGQGLEWIGEINPGNVR NYNENFRNKATMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPIFPYWGQGT LVSS (Id. de Sec. nº: 87)
> Proteína 81B4vH33_85T vH
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQRPGQGLEWIGEINPGNVR NYNENFRNRVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTVVFYGEPIFPYWGQGT LVSS (Id. de Sec. nº: 88)
> Proteína 81B4vH33_90 vH
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVKQAPGQGLEWMGEINPGNV TNYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTVVFYGEPIFPYWGQGT LVSS (Id. de Sec. nº: 89)
> Proteína 81B4vH33_93 vH
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQRPGQGLEWMGEINPGNV TNYNENFRNRATLTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPIFPYWGQGT LVSS (Id. de Sec. nº: 90)
> Proteína 81B4vH50_22 vH
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQRPGQGLEWMGEILPGVVI TNYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTVVFYGEPIFPYWGQGT LVSS (Id. de Sec. nº: 91)
> Proteína 81B4vH50_30 vH
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQRPGQGLEWIGEINPGAVR NYNENFRNRVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTVVFYGEPIFPYWGQGT LVSS (Id. de Sec. nº: 92)
> Proteína 81B4vH51_13 vH
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQAPGQGLEWIGEINPGLVR NYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPIFPYWGQGT LVSS (Id. de Sec. nº: 93)
> Proteína 81B4vH51_15 vH
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTSSWIHWVRQAPGQGLEWIGEINPGAVR NYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPIFPYWGQGT LVSS (Id. de Sec. nº: 94)

> Proteína 81B4vH52_83 vH
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSSWIHWVRQAPGQGLEWIGEINPGSVR' NYNENFRNKATMTVDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCAVVFYGEFYFPYWGQGTLV VSS (Id. de Sec. nº: 95)
> Proteína 73C5vH46_4 vH
QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDY APFKSRVTINKDTSKSQVSFKMSSVQAADTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGTLVT SS (Id. de Sec. nº: 96)
> Proteína 73C5vH46_19 vH
QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDY APFKSRVTISKDTSKNQVSLKMNSLTDDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGTLVT SS (Id. de Sec. nº: 97)
> Proteína 73C5vH46_40 vH
QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDY APFKSRVTISKDNSKSQVSLKMNSVTVADTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGTLVT SS (Id. de Sec. nº: 98)
> Proteína 73C5vH47_65 vH
QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWVRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDY NAPFKSRVTISKDTSKNQVSFKLSSVTVD TAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGTLVT SS (Id. de Sec. nº: 99)
> Proteína 73C5vH47_77 vH
QVQLQESGPGLVAPSETLSLTCTVSGFSLTDYAVHWIRQFPKGKLEWIGVIWSDGSTDY NAPFKSRVTISKDTSKNQVSFKLSSVTDDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGTLVT SS (Id. de Sec. nº: 100)
> Proteína 73C5vH58_91 vH
QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDY APFKSRVTISKDNSKSQVSFKMSSVTADDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGTLVT S (Id. de Sec. nº: 101)

Las secuencias de CDR de las regiones variables humanizadas derivadas de los anticuerpos 81B4 y 73C5 mostradas arriba se representan a continuación.

5 Secuencias de aminoácidos de L-CDR1

> 81B4vK32_3 L-CDR1
TASSSVSSSYFH (Id. de Sec. nº: 26)

10 > 81B4vK32_105 L-CDR1
TASSSVSSSYFH (Id. de Sec. nº: 26)

> 81B4vK32_116 L-CDR1
TASSSVSSSYFH (Id. de Sec. nº: 26)

15 > 81B4vK32_127 L-CDR1
TASSSVSSSYFH (Id. de Sec. nº: 26)

20 > 81B4vK32_138 L-CDR1
TASSSVSSSYFH (Id. de Sec. nº: 26)

> 81B4vK32_140 L-CDR1
TASSSVSSSYFH (Id. de Sec. nº: 26)

> 81B4vK32_141 L-CDR1
TASSSVSSSYFH (Id. de Sec. nº: 26)

5 > 81B4vK32_147 L-CDR1
TASSSVSSSYFH (Id. de Sec. nº: 26)

> 73C5vK39_2 L-CDR1
KASQDVGTNVL (Id. de Sec. nº: 27)

10 > 73C5vK39_7 L-CDR1
KASQDVGTNVL (Id. de Sec. nº: 27)

> 73C5vK39_15 L-CDR1
KASQDVGTNVL (Id. de Sec. nº: 27)

15 Secuencias de aminoácidos de L-CDR2

> 81B4vK32_3 L-CDR2 (Id. de Sec. nº: 102)

20 RTSTLAS
> 81B4vK32_105 L-CDR2 (Id. de Sec. nº: 103)

RTSILAS
> 81B4vK32_116 L-CDR2 (Id. de Sec. nº: 104)

25 RTSRLAS
> 81B4vK32_127 L-CDR2 (Id. de Sec. nº: 104)

RTSRLAS
> 81B4vK32_138 L-CDR2 (Id. de Sec. nº: 104)

30 RTSRLAS
> 81B4vK32_140 L-CDR2 (Id. de Sec. nº: 105)

35 RTSQLAS
> 81B4vK32_141 L-CDR2 (Id. de Sec. nº: 106)

RTSKLAS
> 81B4vK32_147 L-CDR2 (Id. de Sec. nº: 140)

40 > 73C5vK39_2 L-CDR2
SASYRHS (Id. de Sec. nº: 36)

> 73C5vK39_7 L-CDR2
45 SASYRHS (Id. de Sec. nº: 36)

> 73C5vK39_15 L-CDR2
SASYRHS (Id. de Sec. nº: 36)

50 Secuencias de aminoácidos de L-CDR3

> 81B4vK32_3 L-CDR3
HQFHRSPLT (Id. de Sec. nº: 44)

55 > 81B4vK32_105 L-CDR3
HQFHRSPLT (Id. de Sec. nº: 44)

> 81B4vK32_116 L-CDR3
HQFHRSPLT (Id. de Sec. nº: 44)

60 > 81B4vK32_127 L-CDR3
HQFHRSPLT (Id. de Sec. nº: 44)

> 81B4vK32_138 L-CDR3
65 HQFHRSPLT (Id. de Sec. nº: 44)

> 81B4vK32_140 L-CDR3
 HQFHRSPLT (Id. de Sec. nº: 44)

5 > 81B4vK32_141 L-CDR3
 HQFHRSPLT (Id. de Sec. nº: 44)

> 81B4vK32_147 L-CDR3
 HQFHRSPLT (Id. de Sec. nº: 44)

10 > 73C5vK39_2 L-CDR3
 QQYSRYPLT (Id. de Sec. nº: 45)

> 73C5vK39_7 L-CDR3
 QQYSRYPLT (Id. de Sec. nº: 45)

15 > 73C5vK39_15 L-CDR3
 QQYSRYPLT (Id. de Sec. nº: 45)

20 Secuencias de aminoácidos de H-CDR1

> 81B4vH33_49 H-CDR1
 GYSFTSSWIH (Id. de Sec. nº: 53)

25 > 81B4vH33_85T H-CDR1
 GYSFTSSWIH (Id. de Sec. nº: 53)

> 81B4vH33_90 H-CDR1
 GYSFTSSWIH (Id. de Sec. nº: 53)

30 > 81B4vH33_93 H-CDR1
 GYSFTSSWIH (Id. de Sec. nº: 53)

> 81B4vH50_22 H-CDR1
 GYSFTSSWIH (Id. de Sec. nº: 53)

35 > 81B4vH50_30 H-CDR1
 GYSFTSSWIH (Id. de Sec. nº: 53)

> 81B4vH51_13 H-CDR1
 GYSFTSSWIH (Id. de Sec. nº: 53)

40 > 81B4vH51_15 H-CDR1
 GYSFTSSWIH (Id. de Sec. nº: 53)

45 > 81B4vH52_83 H-CDR1
 GYSFTSSWIH (Id. de Sec. nº: 53)

> 73C5vH46_4 H-CDR1
 GFSLTDYAVH (Id. de Sec. nº: 107)

50 > 73C5vH46_19 H-CDR1
 GFSLTDYAVH (Id. de Sec. nº: 107)

> 73C5vH46_40 H-CDR1
 GFSLTDYAVH (Id. de Sec. nº: 107)

55 > 73C5vH47_65 H-CDR1
 GFSLTDYAVH (Id. de Sec. nº: 107)

60 > 73C5vH47_77 H-CDR1
 GFSLTDYAVH (Id. de Sec. nº: 107)

> 73C5vH58_91 H-CDR1
 GFSLTDYAVH (Id. de Sec. nº: 107)

65 Secuencias de aminoácidos de H-CDR2

> 81B4vH33_49 H-CDR2
EINPGNVRTNYNENF (Id. de Sec. nº: 62)

5 > 81B4vH33_85T H-CDR2
EINPGNVRTNYNENF (Id. de Sec. nº: 62)

> 81B4vH33_90 H-CDR2
EINPGNVRTNYNENF (Id. de Sec. nº: 62)

10 > 81B4vH33_93 H-CDR2
EINPGNVRTNYNENF (Id. de Sec. nº: 62)

> 81B4vH50_22 H-CDR2
EILPGVVRTNYNENF (Id. de Sec. nº: 108)

15 > 81B4vH50_30 H-CDR2
EINPGAVRTNYNENF (Id. de Sec. nº: 109)

> 81B4vH51_13 H-CDR2
EINPGLVRTNYNE NF (Id. de Sec. nº: 110)

20 > 81B4vH51_15 H-CDR2
EINPGAVRTNYNENF (Id. de Sec. nº: 109)

25 > 81B4vH52_83 H-CDR2
EINPGSVRTNYNENF (Id. de Sec. nº: 111)

> 73C5vH46_4 H-CDR2
VIWSDGSTDYNAPFKS (Id. de Sec. nº: 64)

30 > 73C5vH46_19 H-CDR2
VIWSDGSTDYNAPFKS (Id. de Sec. nº: 64)

> 73C5vH46_40 H-CDR2
VIWSDGSTDYNAPFKS (Id. de Sec. nº: 64)

35 > 73C5vH47_65 H-CDR2
VIWSDGSTDYNAPFKS (Id. de Sec. nº: 64)

40 > 73C5vH47_77 H-CDR2
VIWSDGSTDFNAPFKS (Id. de Sec. nº: 63)

> 73C5vH58_91 H-CDR2
VIWSDGSTDYNAPFKS (Id. de Sec. nº: 64)

45

Secuencias de aminoácidos de H-CDR3

> 81B4vH33_49 H-CDR3
VFYGEPLYFPY (Id. de Sec. nº: 72)

50 > 81B4vH33_85T H-CDR3
VFYGEPLYFPY (Id. de Sec. nº: 72)

> 81B4vH33_90 H-CDR3
VFYGEPLYFPY (Id. de Sec. nº: 72)

55 > 81B4vH33_93 H-CDR3
VFYGEPLYFPY (Id. de Sec. nº: 72)

60 > 81B4vH50_22 H-CDR3
VFYGEPLYFPY (Id. de Sec. nº: 72)

> 81B4vH50_30 H-CDR3
VFYGEPLYFPY (Id. de Sec. nº: 72)

65

> 81B4vH51_13 H-CDR3
VFYGEPIYFPY (Id. de Sec. nº: 72)

5 > 81B4vH51_15 H-CDR3
VFYGEPIYFPY (Id. de Sec. nº: 72)

> 81B4vH52_83 H-CDR3
VFYGEPIYFPY (Id. de Sec. nº: 72)

10 > 73C5vH46_4 H-CDR3
KGGYSGSWFAY (Id. de Sec. nº: 73)

> 73C5vH46_19 H-CDR3
KGGYSGSWFAY (Id. de Sec. nº: 73)

15 > 73C5vH46_40 H-CDR3
KGGYSGSWFAY (Id. de Sec. nº: 73)

> 73C5vH47_65 H-CDR3
KGGYSGSWFAY (Id. de Sec. nº: 73)

> 73C5vH47_77 H-CDR3
KGGYSGSWFAY (Id. de Sec. nº: 73)

25 > 73C5vH58_91 H-CDR3
KGGYSGSWFAY (Id. de Sec. nº: 73)

En un aspecto, una región variable de la presente invención está unida a una región constante. Por ejemplo, una región variable de la presente invención está unida a una región constante que se muestra a continuación para formar una cadena pesada o una cadena ligera de un anticuerpo.

Región constante de cadena pesada unida aguas abajo de una región pesada variable humanizada:
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSG GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. nº: 112)
Región constante de cadena ligera unida aguas abajo de una región ligera variable humanizada:
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE DSKDYESTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (Id. de Sec. nº: 113)

Secuencias representativas de la cadena ligera y la cadena pesada de la presente invención (cadena ligera: Id. de Sec. nº: 118; cadena pesada: Id. de Sec. nº: 125, 126 y 127) y las secuencias de referencia se muestran a continuación (regiones variables humanizadas derivadas de los anticuerpos 81B4 y 73C5 unidos a regiones constantes).

Secuencias de aminoácidos de cadena ligera

> 81B4vK32_3 Cadena ligera
EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSTLASGIPD RFGSGSGTDFTLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (Id. de Sec. nº: 114)
> 81B4vK32_105 Cadena ligera
EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSILASGVDP RFGSGSGTDFTLTISRLEPEDFATYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (Id. de Sec. nº: 115)

> 81B4vK32_116 Cadena ligera
EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLWIYRTSRLASGVP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTL TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (Id. de Sec. nº: 116)
> 81B4vK32_127 Cadena ligera
EIVLTQSPGTLSPGERATMTCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSRLASGVP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTL TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (Id. de Sec. nº: 117)
> 81B4vK32_138 Cadena ligera
QIVLTQSPGTLSPGERATMTCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLWIYRTSRLASGVP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPFTFGAGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTL TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (Id. de Sec. nº: 118)
> 81B4vK32_140 Cadena ligera
QIVLTQSPGTLSPGERVTMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSQLASGIPD RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAATYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTL SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (Id. de Sec. nº: 119)
> 81B4vK32_141 Cadena ligera
QIVLTQSPGTLSPGERATMTCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSKLASGVP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTL TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (Id. de Sec. nº: 120)
> 81B4vK32_147 Cadena ligera
EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSSVSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSHLASGIPG RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAAVYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTL SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (Id. de Sec. nº: 121)
> 73C5vK39_2 Cadena ligera
EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQDVGTNVLWYQQKPGQAPRPLIYSASYRHSGIP DRFSGSGSGTEFTLTISLQSEDAEYFCQQYSRYPLFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTL TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (Id. de Sec. nº: 122)
> 73C5vK39_7 Cadena ligera
EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQDVGTNVLWYQQKPGQAPRPLIYSASYRHSGIP DRFSGSGSGTEFTLTISLQSEDAVYYCQQYSRYPLFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTL TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (Id. de Sec. nº: 123)
> 73C5vK39_15 Cadena ligera

EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQDVGTNLVWYQQKPGQAPRPLIYSASYRHSGIP
ARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDAEYYCQQYSRYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL
TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (Id. de Sec. nº: 124)

Secuencias de aminoácidos de cadena pesada

> 81B4vH33_49 Cadena pesada

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSSWIHWVRQAPGQGLEWIGEINPGNVRT
NYNENFRNKATMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPIFYWGQGLVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA
AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. nº: 125)

> 81B4vH33_85T Cadena pesada

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSSWIHWVRQRPQGQGLEWIGEINPGNVRT
NYNENFRNRVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTVVFYGEPIFYWGQGLVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA
AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. nº: 126)

> 81B4vH33_90 Cadena pesada

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSSWIHWVKQAPGQGLEWMGEINPGNVR
TNYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTVVFYGEPIFYWGQGLTV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. nº: 127)

> 81B4vH33_93 Cadena pesada

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSSWIHWVRQRPQGQGLEWMGEINPGNVR
TNYNENFRNRATLTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPIFYWGQGLTV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. nº: 128)

> 81B4vH50_22 Cadena pesada

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSSWIHWVRQRPQGQGLEWMGEILPGVVR TNYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTVVFYGEPIFYFYWGQGLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. nº: 129)
> 81B4vH50_30 Cadena pesada
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSSWIHWVRQRPQGQGLEWIGEINPGAVRT NYNENFRNRVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTVVFYGEPIFYFYWGQGLV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. nº: 130)
> 81B4vH51_13 Cadena pesada
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSSWIHWVRQAPQGQGLEWIGEINPGLVRT NYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPIFYFYWGQGLV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. nº: 131)
> 81B4vH51_15 Cadena pesada
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSSWIHWVRQAPQGQGLEWIGEINPGAVRT NYNENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPIFYFYWGQGLV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. nº: 132)
> 81B4vH52_83 Cadena pesada
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTSSWIHWVRQAPQGQGLEWIGEINPGSVRT NYNENFRNKATMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAVVFYGEPIFYFYWGQGLV VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. nº: 133)
> 73C5vH46_4 Cadena pesada

QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDYN APFKSRVTINKDTSKSKQVSFKMSSVQAADTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLTVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. n°: 134)
> 73C5vH46_19 Cadena pesada
QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDYN APFKSRVTISKDTSKNQVSLKMNSLTDDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLTVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. n°: 135)
> 73C5vH46_40 Cadena pesada
QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDYN APFKSRVTISKDNSKSKQVSLKMNSVTVADTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLTVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. n°: 136)
> 73C5vH47_65 Cadena pesada
QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWVRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDY NAPFKSRVTISKDTSKNQVSFKLSSVTVDVDDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLTVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. n°: 137)
> 73C5vH47_77 Cadena pesada
QVQLQESGPGLVAPSETLSLTCTVSGFSLTDYAVHWIRQFPKGKLEWIGVIWSDGSTDF NAPFKSRVTISKDTSKNQVSFKLSSVTDDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLTVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. n°: 138)
> 73C5vH47_91 Cadena pesada

QVQLQESGPGGLVKPSETLSITCTVSGFSLTDYAVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDYN
 APFKSRVTISKDNSKSQVSFKMSSVTADDTAVYYCARKGGYSGSWFAYWGQGLVTVS
 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
 SGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG
 GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
 YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
 REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVDFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. nº: 139)

Las CDR enumeradas anteriormente se definen usando el sistema de numeración Chothia (Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273, 927-948).

- 5 En un aspecto, un anticuerpo de la presente invención comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 80 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 87, 88 y 89. En un aspecto, una región variable de la cadena ligera de la invención se fusiona a una región constante de la cadena ligera, por ejemplo, una región constante kappa o lambda. En un aspecto, una región variable de la cadena pesada de la invención se fusiona a una región constante de la cadena pesada, por ejemplo, IgA, IgD, IgE, IgG o IgM, en particular, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.

10 En este documento se describe un anticuerpo anti-IL-36R que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 115; y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 125 (Anticuerpo B1).

15 También se describe en el presente documento un anticuerpo anti-IL-36R que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 115; y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 126 (Anticuerpo B2).

20 También se describe en el presente documento un anticuerpo anti-IL-36R que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 115; y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 127 (Anticuerpo B3).

25 La presente invención proporciona un anticuerpo anti-IL-36R que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 118; y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 125 (Anticuerpo B4).

30 La presente invención proporciona un anticuerpo anti-IL-36R que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 118; y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 126 (Anticuerpo B5).

35 La presente invención proporciona un anticuerpo anti-IL-36R que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 118; y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 127 (Anticuerpo B6). (continuación)> 73C5vH47_77 Cadena pesada> 73C5vH58_91 Cadena pesada

En este documento se describe un anticuerpo anti-IL-36R que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 123; y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 138 (Anticuerpo C3).

40 También se describe en el presente documento un anticuerpo anti-IL-36R que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 123; y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 139 (Anticuerpo C2).

45 También se describe en el presente documento un anticuerpo anti-IL-36R que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 124; y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 138 (Anticuerpo C1)

Los anticuerpos representativos de la presente invención (anticuerpos B4, B5 y B6) y los anticuerpos de referencia (B1-3 y C1-3) se muestran a continuación.

50 Tabla A.

Anticuerpos	Secuencias de cadena ligera	Secuencias de cadena pesada
-------------	-----------------------------	-----------------------------

B1	EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSS VSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSIL ASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED FATYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C (Id. de Sec. n°:115)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTF SWIHWVRQAPGQGLEWIGEPNPNVRYTNYNE NFRNKATMTVDTSISTAYMELSRIRSDDTAV YYCAVVFYGEPIFYWGQGTLLTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK (Id. de Sec. n°:125)
B2	EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSS VSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSIL ASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED YSFTS FATYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIKRT NYNE VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL DTAV NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE ASTKG SVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYE PEPV KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGELSSVV C (Id. de Sec. n°:115)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTF SWIHWVRQAPGQGLEWIGEPNPNVRYTNYNE NFRNRVTMTVDTSISTAYMELSRIRSDDTAV YYCTVVFYGEPIFYWGQGTLLTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK (Id. de Sec. n°:126)
B3	EIVLTQSPGTLSPGERATMSCTASSS VSSSYFHWYQQKPGQAPRLLIYRTSIL ASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED FATYYCHQFHRSPFTFGQGTKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C (Id. de Sec. n°:115)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTF SWIHWVKQAPGQGLEWMGEINPNVRYTNYN ENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRIRSDDTA VYYCTVVFYGEPIFYWGQGTLLTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSPGK (Id. de Sec. n°:127)

B4	QIVLTQSPGTLISLSPGERATMTCTASSS VSSSYFHWYQQKPGQAPRLWIYRTSR LASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DAATYYCHQFHRSPFTFGAGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (Id. de Sec. nº:118)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTF SWIHWVRQAPGQGLEWIGEINPGNVRTNYNE NFRNKATMTVDTSISTAYMELSRRLSDDTAV YYCAVVFYGEPIFPYWGQGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (Id. de Sec. nº:125)
B5	QIVLTQSPGTLISLSPGERATMTCTASSS VSSSYFHWYQQKPGQAPRLWIYRTSR LASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DAATYYCHQFHRSPFTFGAGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (Id. de Sec. nº:118)	NFRNRVTMTVDTSISTAYMELSRRLSDDTAV YYCTVVFYGEPIFPYWGQGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (Id. de Sec. nº:126)
B6	QIVLTQSPGTLISLSPGERATMTCTASSS VSSSYFHWYQQKPGQAPRLWIYRTSR LASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DAATYYCHQFHRSPFTFGAGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (Id. de Sec. nº:118)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTF SWIHWVRQAPGQGLEWIGEINPGNVRTNYN ENFRNKVTMTVDTSISTAYMELSRRLSDDTA VYYCTVVFYGEPIFPYWGQGLTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK (Id. de Sec. nº:127)

Tabla B

Anticuerpos	Secuencias de cadena ligera	Secuencias de cadena pesada
C1	EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQ DVGNTVLWYQQKPGQAPRPLISASYS RHSGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSE DFAEYYCQQYSRYPLTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (Id. de Sec. nº:124)	QVQLQESGPGLVAPSETLSLTCTVSGFSLTDY AVHWIRQFPGKGLEWIGVIWSDGSTDFNAPF KSRVTISKDTSKNQVSFKLSSVTTDDTAVYYC ARKGGYSGSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG

		VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK (Id. de Sec. n°:138)
C2	EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQ DVGNTVLWYQQKPGQAPRPLIYSASY RHSGIPDRFSGSGSGTEFTLTISSLQSE DFAVYYCQQYSRYPLTFGQGTKLEIK RTVAAPSVEFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (Id. de Sec. n°:123)	QVQLQESGPGLVKPSETLSITCTVSGFSLTDY AVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSDGSTDYNAPF KSRVTISKDNSKQVSKMSSVTADDTAVYY CARGGYSGSWFAYWGQGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK (Id. de Sec. n°:139)
C3	EIVMTQSPATLSVSPGVRATLSCKASQ DVGNTVLWYQQKPGQAPRPLIYSASY RHSGIPDRFSGSGSGTEFTLTISSLQSE DFAVYYCQQYSRYPLTFGQGTKLEIK RTVAAPSVEFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (Id. de Sec. n°:123)	QVQLQESGPGLVAPSETLSLTCTVSGFSLTDY AVHWIRQFPKGLEWIGVIWSDGSTDFNAPF KSRVTISKDTSKNQVSKLSSVTTDDTAVYYC ARKGGYSGSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK (Id. de Sec. n°:138)

Los anticuerpos de la presente invención son útiles en métodos para el tratamiento de diversas enfermedades o trastornos, por ejemplo, enfermedades inmunológicas, inflamatorias, autoinmunes y enfermedades respiratorias en humanos. Por ejemplo, los anticuerpos de la presente invención son útiles en métodos para el tratamiento de psoriasis, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal o artritis psoriásica. Por ejemplo, los anticuerpos de la presente invención son útiles en métodos para el tratamiento del trastorno pulmonar obstructivo crónico (EPOC) o asma. Por ejemplo, los anticuerpos de la presente invención son útiles en métodos para el tratamiento de esclerodermia, pustulosis palmoplantar, psoriasis pustular generalizada, nefropatía diabética, nefritis lúpica, esclerodermia, espondilitis anquilosante, deficiencia en la enfermedad autoinmune antagonista del receptor de IL-36 (DITRA), deficiencia en la enfermedad autoinmune del antagonista del receptor de IL-1 (DIRA) o síndromes periódicos asociados a la criopirina (CAPS).

En algunos aspectos, el anticuerpo humanizado muestra actividad de bloqueo, por lo que disminuye la unión del ligando de IL-36 al receptor de IL-36 en al menos 45%, en al menos 50%, en al menos 55%, en al menos 60%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90% o al menos 95%. La capacidad de un anticuerpo para bloquear la unión del ligando de IL-36 al receptor de IL-36 se puede medir usando ensayos de unión competitiva conocidos en la técnica. Alternativamente, la actividad de bloqueo de un anticuerpo se puede medir evaluando los efectos biológicos de IL-36, como la producción de IL-8, IL-6 y GM-CSF para determinar si la señalización mediada por el receptor de IL-36 está inhibida.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-IL-36R humanizado que tiene propiedades biofísicas favorables. En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-36R humanizado de la presente invención está presente en al menos un 90% de forma de monómero, o en al menos un 92% de forma de monómero, o en al menos un 95% de forma de monómero en un tampón. En otro aspecto, un anticuerpo anti-IL-36R humanizado de la presente invención permanece en al menos un 90% de forma de monómero, o en al menos un 92% de forma de monómero, o en al menos

un 95% de forma de monómero en un tampón durante un mes o por cuatro meses

En un aspecto, un anticuerpo humanizado de la presente invención es el Anticuerpo B4, el Anticuerpo B5 o el Anticuerpo B6. Por consiguiente, en una realización, un anticuerpo humanizado de la presente invención comprende la secuencia de la cadena ligera de Id. de Sec. nº: 118 y la secuencia de la cadena pesada de Id. de Sec. nº: 125 (Anticuerpo B4). En otra realización, un anticuerpo humanizado de la presente invención comprende la secuencia de cadena ligera de Id. de Sec. nº: 118 y la secuencia de cadena pesada de Id. de Sec. nº: 126 (Anticuerpo B5). En otra realización, un anticuerpo humanizado de la presente invención comprende la secuencia de cadena ligera de Id. de Sec. nº: 118 y la secuencia de cadena pesada de Id. de Sec. nº: 127 (Anticuerpo B6). En una realización adicional, un anticuerpo humanizado de la presente invención consiste en la secuencia de cadena ligera de Id. de Sec. nº: 118 y la secuencia de cadena pesada de Id. de Sec. nº: 125 (Anticuerpo B4). En otra realización, un anticuerpo humanizado de la presente invención consiste en la secuencia de cadena ligera de Id. de Sec. nº: 118 y la secuencia de cadena pesada de Id. de Sec. nº: 126 (Anticuerpo B5). En otra realización, un anticuerpo humanizado de la presente invención consiste en la secuencia de cadena ligera de Id. de Sec. nº: 118 y la secuencia de cadena pesada de Id. de Sec. nº: 127 (Anticuerpo B6).

En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-IL-36R humanizados, que incluyen fragmentos de unión a antígeno de los mismos, tales como regiones variables de cadena pesada y ligera, comprenden una secuencia de aminoácidos de los residuos derivados del Anticuerpo B4, Anticuerpo B5 o Anticuerpo B6.

Los anticuerpos anti-IL-36R humanizados pueden incluir sustituciones de aminoácidos específicas en las regiones de consenso o marco de la línea germinal. La sustitución específica de residuos de aminoácidos en estas posiciones marco puede mejorar varios aspectos del rendimiento del anticuerpo, incluida la afinidad y/o estabilidad de la unión, por encima de lo demostrado en los anticuerpos humanizados formados por "intercambio directo" de CDR o HVL en las regiones marco de línea germinal humana.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona anticuerpos monoclonales con las combinaciones de regiones variables de cadena ligera y variable de Id. de Sec. nº: 80/88, 80/89 o 80/87. Dichas regiones variables se pueden combinar con regiones constantes humanas.

En este documento se describe un anticuerpo anti-IL-36R o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende:

- a) una secuencia L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 de Id. de Sec. nº: 21, 30, 39, 48, 57 y 67, respectivamente; o
- b) una secuencia L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 de Id. de Sec. nº: 22, 31, 40, 49, 58 y 68, respectivamente; o
- c) una secuencia L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 de Id. de Sec. nº: 23, 32, 41, 50, 59 y 69, respectivamente; o
- d) una secuencia L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 de Id. de Sec. nº: 24, 33, 42, 51, 60 y 70, respectivamente; o
- e) una secuencia L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 de Id. de Sec. nº: 25, 34, 43, 52, 61 y 71, respectivamente; o
- f) una secuencia L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 de Id. de Sec. nº: 26, 35, 44, 53, 62 y 72, respectivamente; o
- g) una secuencia L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 de Id. de Sec. nº: 27, 36, 45, 54, 63 y 73, respectivamente; o
- h) una secuencia L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 de Id. de Sec. nº: 27, 36, 45, 54, 64 y 74, respectivamente; o
- i) una secuencia L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 de Id. de Sec. nº: 27, 36, 45, 54, 64 y 73, respectivamente; o
- j) una secuencia L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 de Id. de Sec. nº: 28, 37, 46, 55, 65 y 74, respectivamente; o
- k) una secuencia L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 de Id. de Sec. nº: 29, 38, 47, 56, 66 y 75, respectivamente.

El anticuerpo anti-IL-36R o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención comprende: una secuencia L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 de Id. de Sec. nº: 26, 104, 44, 53, 62 y 72, respectivamente.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-IL-36R humanizado es un fragmento de anticuerpo. Generalmente se han discutido varios fragmentos de anticuerpos anteriormente y hay técnicas que se han desarrollado para la producción de fragmentos de anticuerpos. Los fragmentos pueden derivarse a través de la digestión proteolítica de anticuerpos intactos (véase, por ejemplo, Morimoto et al., 1992, Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24: 107-117; y Brennan et al., 1985, Science 229: 81). Alternativamente, los fragmentos se pueden producir directamente en células huésped recombinantes. Por ejemplo, los fragmentos Fab'-SH pueden recuperarse directamente de E. coli y acoplarse

químicamente para formar fragmentos $F(ab')_2$ (véase, por ejemplo, Carter et al., 1992, Bio/Technology 10: 163-167). Por otro enfoque, los fragmentos $F(ab')_2$ pueden aislarse directamente del cultivo de células huésped recombinantes. Otras técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpos serán evidentes para el profesional experto. Por consiguiente, en un aspecto, la presente invención proporciona fragmentos de anticuerpos que comprenden una de las combinaciones de regiones variables de cadena ligera y regiones variables de cadena pesada que comprenden la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. n°: 80 y de Id. de Sec. n°: 87, 88 u 89, respectivamente.

Ciertas realizaciones incluyen un fragmento $F(ab')_2$ de un anticuerpo anti-IL-36R humanizado que comprende una secuencia de cadena ligera de Id. de Sec. n°: 118 en combinación con una secuencia de cadena pesada de Id. de Sec. n°: 125, 126 o 127. Dichas realizaciones pueden incluir un anticuerpo intacto que comprende tal $F(ab')_2$.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo incluye una región constante que media la función efectora. La región constante puede proporcionar citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) y/o respuestas de citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) contra una célula diana que expresa IL-36R. Los dominios efectores pueden ser, por ejemplo, una región Fc de una molécula de Ig.

El dominio efector de un anticuerpo puede ser de cualquier especie de animal vertebrado e isotipo adecuados. Los isotipos de diferentes especies animales difieren en las capacidades para mediar las funciones efectoras. Por ejemplo, la capacidad de la inmunoglobulina humana para mediar CDC y ADCC/ADCP generalmente está en el orden de $IgM \approx IgG_1 \approx IgG_3 > IgG_2 > IgG_4$ e $IgG_1 \approx IgG_3 > IgG_2 / IgM / IgG_4$, respectivamente. Las inmunoglobulinas murinas median CDC y ADCC/ADCP generalmente en el orden de $IgM \approx IgG_3 >> IgG_{2b} > IgG_{2a} >> IgG_1$ e $IgG_{2b} > IgG_{2a} > IgG_1 >> IgG_3$ murinas, respectivamente. En otro ejemplo, la IgG_{2a} murina media ADCC mientras que la IgG_{2a} murina y la IgM median CDC.

Modificaciones de anticuerpos

Los anticuerpos y agentes anti-IL-36R humanizados pueden incluir modificaciones del anticuerpo anti-IL-36R humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo. Por ejemplo, puede ser deseable modificar el anticuerpo con respecto a la función efectora, para mejorar la efectividad del anticuerpo en el tratamiento del cáncer. Dicha modificación es la introducción de residuos de cisteína en la región Fc, permitiendo así la formación de enlaces disulfuro entre cadenas en esta región. El anticuerpo homodimérico generado de este modo puede tener una capacidad de internalización mejorada y/o una mayor destrucción de células mediadas por el complemento y/o citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). Véase, por ejemplo, Caron et al., 1992, J. Exp Med. 176: 1191-1195; y Shopes, 1992, J. Immunol. 148: 2918-2922. Los anticuerpos homodiméricos que tienen una actividad antitumoral mejorada también se pueden preparar usando reticuladores heterobifuncionales como se describe en Wolff et al., 1993, Cancer Research 53: 2560-2565. Alternativamente, un anticuerpo puede ser diseñado para contener regiones Fc duales, mejorando la lisis del complemento y las capacidades de ADCC del anticuerpo. Véase Stevenson et al., 1989, Anti-Cancer Drug Design 3: 219-230.

Se han generado anticuerpos con capacidad mejorada para soportar ADCC modificando el patrón de glicosilación de su región Fc. Esto es posible ya que la glicosilación de anticuerpos en el residuo de asparagina, N297, en el dominio CH_2 está implicada en la interacción entre los requisitos previos de los receptores IgG y Fcγ para ADCC. Las líneas de células huésped se han diseñado para expresar anticuerpos con glicosilación alterada, como N-acetilglucosamina bisectante o fucosa reducida. La reducción de fucosa proporciona una mayor mejora de la actividad de ADCC que el aumento de la presencia de N-acetilglucosamina bisectante. Además, la mejora de ADCC por anticuerpos bajos en fucosa es independiente del polimorfismo FcγRIIIa V/F.

La modificación de la secuencia de aminoácidos de la región Fc de los anticuerpos es una alternativa a la ingeniería de glicosilación para mejorar la ADCC. El sitio de unión en IgG_1 humana para los receptores de Fcγ se ha determinado mediante un amplio análisis mutacional. Esto condujo a la generación de anticuerpos IgG_1 humanizados con mutaciones Fc que aumentan la afinidad de unión por FcγRIIIa y aumentan ADCC in vitro. Además, se han obtenido variantes de Fc con muchas permutaciones diferentes de propiedades de unión, por ejemplo, unión mejorada a receptores FcγR específicos con unión inalterada o disminuida a otros receptores FcγR.

Otro aspecto incluye inmunoconjugados que comprenden el anticuerpo humanizado o fragmentos del mismo conjugados con un agente citotóxico tal como un agente quimioterapéutico, una toxina (por ejemplo, una toxina enzimáticamente activa de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, o fragmentos del mismo), o un isótopo radiactivo (es decir, un radiocongugado).

Los agentes quimioterapéuticos útiles en la generación de tales inmunoconjugados se han descrito anteriormente. Las toxinas enzimáticamente activas y sus fragmentos que pueden usarse para formar inmunoconjugados útiles incluyen la cadena A de la difteria, fragmentos activos no ligantes de la toxina diftérica, la cadena A de la exotoxina (de Pseudomonas aeruginosa), la cadena A de la ricina, la cadena A de la abrina, la cadena A de la modeccina, la alfa-sarcina, Proteínas Aleurites fordii, proteínas de diantina, proteínas de Phytolaca americana (PAPI, PAPII y PAP-S), inhibidor de Momordica charantia, curcuma, crocina, inhibidor de Sapaonaria officinalis, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, enomicina, tricotecenos y similares. Una variedad de radionucleidos está disponible para la

producción de anticuerpos anti-IL-36R humanizados radioconjugados. Los ejemplos incluyen ^{212}Bi , ^{131}I , ^{131}In , ^{90}Y y ^{186}Re .

Los conjugados del anticuerpo anti-IL-36R humanizado y el agente citotóxico o quimioterapéutico pueden prepararse mediante métodos conocidos, usando una variedad de agentes de acoplamiento de proteínas bifuncionales tales como propionato de N-succinimidil-3-(2-piridilditiol)(SPDP), iminotiolano (IT), derivados bifuncionales de imidoésteres (como dimetil adipimidato HCL), ésteres activos (como disuccinimidil suberato), aldehídos (como glutareldérido), compuestos de bis-azido (como bis(p-azidobenzoil)hexanodiamina), derivados de bis-diazonio (como bis-(p-diazoniobenzoil)-etilendiamina), diisocianatos (como tolueno 2,6-diisocianato) y compuestos de flúor bis-activo (como 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzeno). Por ejemplo, se puede preparar una inmunotoxina de ricina como se describe en Vitetta et al., 1987, Science 238: 1098. El ácido 1-isotiocianatobencil-3-metildietil triaminopentaacético marcado con carbono 14 (MX-DTPA) es un agente quelante ejemplar para la conjugación de radionucleótido con el anticuerpo. Los conjugados también pueden formarse con un enlazador escindible.

Los anticuerpos anti-IL-36R humanizados descritos en el presente documento también pueden formularse como inmunoliposomas. Los liposomas que contienen el anticuerpo se preparan por métodos conocidos en la técnica, tal como se describe en Epstein et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 3688; Hwang et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4030; y las patentes U.S. n° 4.485.045 y 4.544.545. Los liposomas que tienen un tiempo de circulación mejorado se describen, por ejemplo, en la patente de EE.UU. n° 5,013,556.

Se pueden generar liposomas particularmente útiles mediante el método de evaporación de fase inversa con una composición lipídica que comprende fosfatidilcolina, colesterol y derivatizado de PEG d fosfatidiletanolamina (PEG-PE). Los liposomas se extruyen a través de filtros de tamaño de poro definido para producir liposomas con el diámetro deseado. Los fragmentos Fab de un anticuerpo divulgado en el presente documento pueden conjugarse con los liposomas como se describe en Martin et al., 1982, J. Biol. Chem 257: 286-288 a través de una reacción de intercambio de disulfuro. Un agente quimioterapéutico (como la doxorubicina) está opcionalmente contenido dentro del liposoma. Véase, por ejemplo, Gabizon et al., 1989, J. National Cancer Inst. 81 (19): 1484.

Los anticuerpos descritos y divulgados en el presente documento también se pueden usar en procedimientos de ADEPT (terapia con profármacos enzimáticos dirigidos por anticuerpos) conjugando el anticuerpo con una enzima activadora de profármacos que convierte un profármaco (por ejemplo, un agente quimioterapéutico peptídico), en un medicamento activo contra el cáncer. Véanse, por ejemplo, los documentos WO 81/01145, WO 88/07378 y la patente de EE.UU. N° 4.975.278. El componente enzimático del inmunconjugado útil para ADEPT es una enzima capaz de actuar sobre un profármaco de tal manera que lo convierta en su forma citotóxica más activa. Las enzimas específicas que son útiles en ADEPT incluyen, pero no se limitan a, fosfatasa alcalina para convertir profármacos que contienen fosfato en fármacos libres; arilsulfatasa para convertir profármacos que contienen sulfato en fármacos libres; citosina desaminasa para convertir la 5-fluorocitosina no tóxica en el medicamento contra el cáncer, 5-fluorouracilo; proteasas, tales como proteasa serrata, termolisina, subtilisina, carboxipeptidasas y catepsinas (tales como catepsinas B y L), para convertir los profármacos que contienen péptidos en fármacos libres; D-alanilcarboxipeptidasas, para convertir profármacos que contienen sustituyentes D-aminoácidos; enzimas de corte de carbohidratos tales como β -galactosidasa y neuraminidasa para convertir profármacos glicosilados en fármacos libres; β -lactamasa para convertir fármacos derivados con β -lactamas en fármacos libres; y penicilina amidasa, tales como penicilina V amidasa o penicilina G amidasa, para convertir fármacos derivados de amina con grupos fenoxiacetilo o fenilacetilo, respectivamente, en fármacos libres. Alternativamente, los anticuerpos que tienen actividad enzimática ("abzimas") se pueden usar para convertir los profármacos en fármacos activos libres (véase, por ejemplo, Massey, 1987, Nature 328: 457-458). Los conjugados de anticuerpo-abzima se pueden preparar por métodos conocidos para el suministro de la abzima a una población de células tumorales, por ejemplo, uniendo covalentemente la enzima a los reactivos de reticulación heterobifuncional/anticuerpo anti-IL-36R humanizado discutidos anteriormente. Alternativamente, las proteínas de fusión que comprenden al menos la región de unión al antígeno de un anticuerpo descrito en el presente documento unido al menos a una porción funcionalmente activa de una enzima como se describió anteriormente pueden construirse usando técnicas de ADN recombinante (véase, por ejemplo, Neuberger et al., 1984, Nature 312: 604-608).

En ciertas realizaciones, puede ser deseable usar un fragmento de anticuerpo anti-IL-36R humanizado, en lugar de un anticuerpo intacto, por ejemplo, para aumentar la penetración en el tejido. Puede ser deseable modificar el fragmento de anticuerpo para aumentar su vida media en suero. Esto se puede lograr, por ejemplo, mediante la incorporación de un epítipo de unión al receptor salvaje en el fragmento de anticuerpo. En un método, la región apropiada del fragmento de anticuerpo se puede alterar (por ejemplo, mutar), o el epítipo se puede incorporar en un marcador peptídico que luego se fusiona con el fragmento de anticuerpo en cualquier extremo o en el medio, por ejemplo, mediante síntesis de ADN o de péptidos. Véase, por ejemplo, WO 96/32478.

En otras realizaciones, también se incluyen modificaciones covalentes del anticuerpo anti-IL-36R humanizado. Las modificaciones covalentes incluyen la modificación de residuos de cisteinilo, residuos de histidilo, residuos de lisinilo y amino terminal, residuos de arginilo, residuos de tirosilo, grupos laterales carboxilo (aspartilo o glutamilo), residuos de glutaminilo y asparaginilo, o residuos de serilo o treonilo. Otro tipo de modificación covalente implica el acoplamiento químico o enzimático de glucósidos al anticuerpo. Dichas modificaciones pueden realizarse por síntesis química o por

escisión enzimática o química del anticuerpo, si corresponde. Se pueden introducir otros tipos de modificaciones covalentes del anticuerpo en la molécula haciendo reaccionar residuos de aminoácidos específicos del anticuerpo con un agente derivatizante orgánico que sea capaz de reaccionar con cadenas laterales seleccionadas o los residuos amino o carboxi terminales.

La eliminación de cualquier porción de carbohidrato presente en el anticuerpo puede realizarse química o enzimáticamente. La desglicosilación química está descrita por Hakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biophys 259: 52 y por Edge et al., 1981, Anal. Biochem., 118: 131. La escisión enzimática de las porciones de carbohidratos en los anticuerpos se puede lograr mediante el uso de una variedad de endo- y exo-glicosidasas como se describe por Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol 138: 350.

Otro tipo de modificación covalente útil comprende unir el anticuerpo a uno de una variedad de polímeros no proteicos, por ejemplo, polietilenglicol, polipropilenglicol, o polioxialquilenos, de la manera establecida en una o más de las patentes de EE.UU. n° 4.640.835, patente de EE.UU. n° 4.496.689, patente de EE.UU. n° 4.301.144, patente de EE.UU. n° 4.670.417, patente de EE.UU. n° 4.791.192 y la patente de EE.UU. n° 4.179.337.

Humanización y variantes de secuencia de aminoácidos

Las variantes de secuencia de aminoácidos del anticuerpo anti-IL-36R se pueden preparar mediante la introducción de cambios de nucleótidos apropiados en el ADN del anticuerpo anti-IL-36R, o mediante síntesis de péptidos. Dichas variantes incluyen, por ejemplo, delecciones y/o inserciones en y/o sustituciones de residuos dentro de las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos anti-IL-36R de los ejemplos aquí descritos. Cualquier combinación de delecciones, inserciones y sustituciones se realiza para llegar a la construcción final, siempre que la construcción final posea las características deseadas. Los cambios de aminoácidos también pueden alterar los procesos postraduccionales del anticuerpo anti-IL-36R humanizado o variante, como cambiar el número o la posición de los sitios de glucosilación.

Un método útil para la identificación de ciertos residuos o regiones del anticuerpo anti-IL-36R que son ubicaciones preferidas para la mutagénesis se denomina "mutagénesis de exploración de alanina", como lo describen Cunningham y Wells (Science, 244: 1081-1085 (1989)). Aquí, se identifica un residuo o grupo de residuos diana (por ejemplo, residuos cargados como arg, asp, his, lys y glu) y se reemplazan por un aminoácido neutral o cargado negativamente (típicamente alanina) para afectar la interacción de los aminoácidos con antígeno IL-36R. Esas ubicaciones de aminoácidos que demuestran sensibilidad funcional a las sustituciones luego se refinan mediante la introducción de variantes adicionales u otras en, o para, los sitios de sustitución. Por lo tanto, aunque el sitio para introducir una variación de secuencia de aminoácidos está predeterminado, la naturaleza de la mutación per se no tiene que estar predeterminada. Por ejemplo, para analizar el rendimiento de una mutación en un sitio determinado, se realiza un escaneo de alanina o mutagénesis aleatoria en el codón o región diana y las variantes de anticuerpo expresado anti-IL-36R se seleccionan para la actividad deseada.

Las inserciones de secuencia de aminoácidos incluyen fusiones de amino y/o carboxilo terminal que varían en longitud desde un residuo hasta polipéptidos que contienen cien o más residuos, así como inserciones intrasecuencia de residuos de aminoácidos simples o múltiples. Los ejemplos de inserciones terminales incluyen un anticuerpo anti-IL-36R fusionado a un marcador de epítipo. Otras variantes de inserción de la molécula de anticuerpo anti-IL-36R incluyen una fusión al extremo N o C del anticuerpo anti-IL-36R de una enzima o un polipéptido que aumenta la vida media en suero del anticuerpo.

Otro tipo de variante es una variante de sustitución de aminoácidos. Estas variantes tienen al menos un residuo de aminoácido en la molécula de anticuerpo anti-IL-36R eliminado y un residuo diferente insertado en su lugar. Los sitios de mayor interés para la mutagénesis por sustitución incluyen las regiones hipervariables, pero también se contemplan alteraciones de la FR. Las sustituciones conservativas se muestran en la Tabla 5 bajo el título de "sustituciones preferidas". Si tales sustituciones dan como resultado un cambio en la actividad biológica, entonces se pueden introducir cambios más sustanciales, denominados "sustituciones ejemplares", o como se describe adicionalmente a continuación en referencia a las clases de aminoácidos, y los productos seleccionados.

TABLA C:

Residuo original	Sustituciones ejemplares	Sustituciones preferidas
Ala (A)	val; leu ile	val
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gin; his; asp, lys; arg	gln
Asp (D)	glu; asn	glu
Cys (C)	ser; ala	ser
Gln (Q)	asn; glu	asn
Glu (E)	asp; gln	asp
Gly (G)	ala	ala
His (H)	arg; asn; gln; lys;	arg
Ile (I)	leu; val; reunió; ala; phe; norleucina	leu

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

En química de proteínas, se acepta generalmente que las propiedades biológicas del anticuerpo se pueden lograr seleccionando sustituciones que difieran significativamente en su efecto sobre el mantenimiento de (a) la estructura del esqueleto del polipéptido en el área de la sustitución, por ejemplo, como una lámina o conformación helicoidal, (b) la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio diana, o (c) la mayor parte de la cadena lateral. Los residuos naturales se dividen en grupos de acuerdo con las propiedades comunes de la cadena lateral:

- (1) hidrófobos: norleucina, met, ala, val, leu, ile;
- (2) hidrófilos neutros: cys, ser, thr;
- (3) ácidos: asp, glu;
- (4) básicos: asn, gin, his, lys, arg;
- (5) residuos que influyen en la orientación de la cadena: gly, pro; y
- (6) aromáticos: trp, tyr, phe.

Las sustituciones no conservativas implicarán el intercambio de un miembro de una de estas clases por otra clase.

Cualquier residuo de cisteína que no esté involucrado en el mantenimiento de la conformación adecuada del anticuerpo anti-IL-36R humanizado o variante también puede ser sustituido, generalmente con serina, para mejorar la estabilidad oxidativa de la molécula, prevenir la reticulación aberrante o proporcionar puntos de conjugación a un compuesto citotóxico o citostático. Por el contrario, pueden agregarse enlaces de cisteína al anticuerpo para mejorar su estabilidad (particularmente cuando el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo tal como un fragmento Fv).

Un tipo de variante de sustitución implica la sustitución de uno o más residuos de la región hipervariable de un anticuerpo parental (por ejemplo, un anticuerpo humanizado o humano). Generalmente, la(s) variante(s) resultante(s) seleccionada(s) para un mayor desarrollo tendrá propiedades biológicas mejoradas en relación con el anticuerpo original a partir del cual se generan. Una forma conveniente de generar tales variantes de sustitución es la maduración por afinidad utilizando la presentación en fagos. Brevemente, varios sitios de regiones hipervariables (por ejemplo, 6-7 sitios) están mutados para generar todas las sustituciones de amino posibles en cada sitio. Las variantes de anticuerpos así generadas se muestran de forma monovalente a partir de partículas de fagos filamentosos como fusiones al producto del gen III de M13 empaquetado dentro de cada partícula. Las variantes mostradas en fagos se seleccionan luego por su actividad biológica (por ejemplo, afinidad de unión). Para identificar los sitios candidatos de la región hipervariable para la modificación, se puede realizar la mutagénesis de exploración de alanina para identificar los residuos de la región hipervariable que contribuyen significativamente a la unión al antígeno. Alternativamente, o además, puede ser beneficioso analizar una estructura cristalina del complejo antígeno-anticuerpo para identificar puntos de contacto entre el anticuerpo y la IL-36R humana. Tales residuos de contacto y residuos vecinos son candidatos para la sustitución de acuerdo con las técnicas elaboradas aquí. Una vez que se generan tales variantes, el panel de variantes se somete a selección como se describe en el presente documento y los anticuerpos con propiedades superiores en uno o más ensayos relevantes se pueden seleccionar para un mayor desarrollo.

Otro tipo de variante de aminoácidos del anticuerpo altera el patrón de glucosilación original del anticuerpo. Por "alterar" se entiende eliminar una o más porciones de carbohidratos encontrados en el anticuerpo, y/o agregar uno o más sitios de glucosilación que no están presentes en el anticuerpo.

En algunas realizaciones, puede ser deseable modificar los anticuerpos de la invención para añadir sitios de glucosilación. La glucosilación de anticuerpos está típicamente unida a N o unida a O. Unido a N se refiere a la unión de la porción de carbohidrato a la cadena lateral de un residuo de asparagina. Las secuencias de tripéptidos asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, donde X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática de la porción de carbohidrato a la cadena lateral de asparagina. Por lo tanto, la presencia de cualquiera de estas secuencias de tripéptidos en un polipéptido crea un sitio de glucosilación potencial. La glucosilación unida a O se refiere a la unión de uno de los azúcares N-acetilgalactosamina, galactosa o xilosa a un ácido hidroxiamino, más comúnmente serina o treonina, aunque también se puede usar 5- hidroxiprolina o 5-hidroxilisina. Por lo tanto, para glicosilar una proteína dada, por ejemplo, un anticuerpo, la secuencia de aminoácidos de la proteína está diseñada para contener una o más de las secuencias de tripéptidos descritas anteriormente (para sitios de glucosilación unidos a N). La alteración también puede realizarse mediante la adición o la sustitución por uno o más residuos de serina o treonina a la secuencia del anticuerpo original (para sitios de glucosilación unidos a O).

Las moléculas de ácido nucleico que codifican las variantes de secuencia de aminoácidos del anticuerpo anti-IL-36R se preparan mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica. Estos métodos incluyen, pero no se limitan a, el aislamiento de una fuente natural (en el caso de variantes de secuencia de aminoácidos que ocurren naturalmente) o la preparación mediante mutagénesis mediada por oligonucleótidos (o dirigida al sitio), mutagénesis por PCR y mutagénesis por casete de una versión variante preparada anteriormente o una versión no variante del anticuerpo anti-IL-36R.

Polinucleótidos, vectores, células huésped y métodos recombinantes

Otras realizaciones abarcan polinucleótidos aislados que comprenden una secuencia que codifica un anticuerpo anti-IL-36R humanizado, vectores y células huésped que comprenden los polinucleótidos, y técnicas recombinantes para la producción del anticuerpo humanizado. Los polinucleótidos aislados pueden codificar cualquier forma deseada del anticuerpo anti-IL-36R incluyendo, por ejemplo, anticuerpos monoclonales de longitud completa, Fab, Fab', F(ab')₂ y fragmentos Fv, diacuerpos, anticuerpos lineales, de cadena sencilla moléculas de anticuerpos y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos.

Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que comprenden secuencias que codifican la región variable de la cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las Id. de Sec. n°: 80 y región variable de la cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. n°: 87-89. Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que comprenden secuencias que codifican la cadena ligera de un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las Id. de Sec. n°: 118 y la cadena pesada de un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de las Id. de Sec. n°: 125-127.

En un aspecto, la secuencia o secuencias de polinucleótidos aisladas codifican un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene una región variable de cadena ligera y cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de Id. de Sec. n°: 118 e Id. de Sec. n°: 126, respectivamente; Id. de Sec. n°: 118 e Id. de Sec. n°: 127, respectivamente; o Id. de Sec. n°: 118 e Id. de Sec. n°: 125.

Los polinucleótidos que comprenden una secuencia que codifica un anticuerpo anti-IL-36R humanizado o un fragmento o cadena del mismo pueden fusionarse a una o más secuencias reguladoras o de control, como se conoce en la técnica, y pueden estar contenidos en vectores de expresión adecuados o célula huésped como se conoce en la técnica. Cada una de las moléculas de polinucleótidos que codifican los dominios variables de la cadena pesada o ligera pueden fusionarse independientemente a una secuencia de polinucleótidos que codifica un dominio constante, como un dominio constante humano, que permite la producción de anticuerpos intactos. Alternativamente, los polinucleótidos, o porciones de los mismos, pueden fusionarse entre sí, proporcionando una plantilla para la producción de un anticuerpo de cadena única.

Para la producción recombinante, un polinucleótido que codifica el anticuerpo se inserta en un vector replicable para la clonación (amplificación del ADN) o para la expresión. Están disponibles muchos vectores adecuados para expresar el anticuerpo recombinante. Los componentes del vector generalmente incluyen, pero no se limitan a, uno o más de los siguientes: una secuencia señal, un origen de replicación, uno o más genes marcadores, un elemento potenciador, un promotor y una secuencia de terminación de la transcripción.

Los anticuerpos anti-IL-36R humanizados también pueden producirse como polipéptidos de fusión, en los que el anticuerpo se fusiona con un polipéptido heterólogo, tal como una secuencia señal u otro polipéptido que tiene un sitio de escisión específico en el extremo amino terminal de la proteína o polipéptido maduro. La secuencia de señal heteróloga seleccionada es típicamente una que es reconocida y procesada (es decir, escindida por una peptidasa de señal) por la célula huésped. Para las células huésped procariotas que no reconocen y procesan la secuencia señal del anticuerpo anti-IL-36R humanizado, la secuencia señal puede sustituirse por una secuencia señal procariota. La secuencia señal puede ser, por ejemplo, secuencias líderes de fosfatasa alcalina, penicilinas, lipoproteína, enterotoxina II termoestables y similares. Para la secreción en levadura, la secuencia señal nativa puede sustituirse, por ejemplo, con una secuencia líder obtenida del factor alfa de la invertasa de levadura (incluidos los líderes del factor α de *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*), fosfatasa ácida, glucoamilasa de *C. albicans* o la señal descrita en WO90/13646. En células de mamíferos, se pueden usar secuencias señal de mamífero así como también líderes secretoras virales, por ejemplo, la señal de herpes simplex gD. El ADN para dicha región precursora se liga en el marco de lectura al ADN que codifica el anticuerpo anti-IL-36R humanizado.

Los vectores de expresión y clonación contienen una secuencia de ácido nucleico que permite que el vector se replique en una o más células huésped seleccionadas. En general, en los vectores de clonación, esta secuencia es una que permite que el vector se replique independientemente del ADN cromosómico del huésped, e incluye orígenes de replicación o secuencias de replicación autónoma. Dichas secuencias son bien conocidas por una variedad de bacterias, levaduras y virus. El origen de replicación del plásmido pBR322 es adecuado para la mayoría de las bacterias Gram negativas, el 2- μ . El origen del plásmido es adecuado para la levadura, y diversos orígenes virales (SV40, poliovirus, adenovirus, VSV y BPV) son útiles para la clonación de vectores en células de mamíferos. En general, el componente de origen de replicación no es necesario para los vectores de expresión de mamíferos (el origen de

SV40 generalmente se puede usar solo porque contiene el promotor temprano).

Los vectores de expresión y clonación pueden contener un gen que codifica un marcador seleccionable para facilitar la identificación de la expresión. Los genes marcadores seleccionables típicos codifican proteínas que confieren resistencia a los antibióticos u otras toxinas, por ejemplo, ampicilina, neomicina, metotrexato o tetraciclina, o alternativamente, son deficiencias auxotróficas del complemento, o en otras alternativas suministran nutrientes específicos que no están presentes en medios complejos, por ejemplo, el gen que codifica la D-alanina racemasa para *Bacilos*.

Un ejemplo de un esquema de selección utiliza un fármaco para detener el crecimiento de una célula huésped. Las células que se transforman con éxito con un gen heterólogo producen una proteína que confiere resistencia a los medicamentos y, por lo tanto, sobrevive al régimen de selección. Los ejemplos de dicha selección dominante usan los medicamentos neomicina, ácido micofenólico e higromicina. Los marcadores seleccionables comunes para células de mamífero son aquellos que permiten la identificación de células competentes para tomar un ácido nucleico que codifica un anticuerpo anti-IL-36R humanizado, como DHFR (dihidrofolato reductasa), timidina quinasa, metalotioneína-I y -II (como genes de metalotioneína de primates), adenosina desaminasa o descarboxilasa de ornitina y similares. Las células transformadas con el gen de selección DHFR se identifican primero cultivando todos los transformantes en un medio de cultivo que contiene metotrexato (Mtx), un antagonista competitivo de DHFR. Una célula huésped apropiada cuando se emplea DHFR de tipo salvaje es la línea celular de ovario de hámster chino (CHO) deficiente en la actividad de DHFR (por ejemplo, DG44).

Alternativamente, las células huésped (particularmente los huéspedes de tipo salvaje que contienen DHFR endógeno) se transformaron o co-transformaron con secuencias de ADN que codifican el anticuerpo anti-IL-36R, la proteína DHFR de tipo salvaje y otro marcador seleccionable tal como el aminoglucósido 3'-fosfotransferasa (APH) se puede seleccionar mediante el crecimiento celular en un medio que contiene un agente de selección para el marcador seleccionable, como un antibiótico aminoglucosídico, por ejemplo, kanamicina, neomicina o G418. Ver, por ejemplo, la patente de EE.UU. N ° 4.965.199.

Cuando la producción recombinante se realiza en una célula de levadura como célula huésped, el gen TRP1 presente en el plásmido de levadura YRp7 (Stinchcomb et al., 1979, *Nature* 282: 39) puede usarse como un marcador seleccionable. El gen TRP1 proporciona un marcador de selección para una cepa mutante de levadura que carece de la capacidad de crecer en triptófano, por ejemplo, ATCC n° 44076 o PEP4-1 (Jones, 1977, *Genetics* 85:12). La presencia de la lesión *trp1* en el genoma de la célula huésped de la levadura proporciona un entorno eficaz para detectar la transformación por crecimiento en ausencia de triptófano. De manera similar, las cepas de levadura deficientes en *Leu2p* como ATCC 20,622 y 38,626 se complementan con plásmidos conocidos que llevan el gen *LEU2*.

Además, los vectores derivados del plásmido circular pKD1 de 1,6 μ m pueden usarse para la transformación de levaduras *Kluyveromyces*. Alternativamente, se describió un sistema de expresión para la producción a gran escala de quimosina de ternera recombinante para *K. lactis* (Van den Berg, 1990, *Bio/Technology* 8: 135). También se han descrito vectores de expresión estables de múltiples copias para la secreción de albúmina sérica humana recombinante madura por cepas industriales de *Kluyveromyces* (Fleer et al., 1991, *Bio/Technology* 9: 968-975).

Los vectores de expresión y clonación generalmente contienen un promotor que es reconocido por el organismo huésped y está operativamente unido a la molécula de ácido nucleico que codifica un anticuerpo anti-IL-36R o una cadena polipeptídica del mismo. Los promotores adecuados para usar con huéspedes procariotas incluyen el promotor *phoA*, los sistemas promotores de β -lactamasa y lactosa, fosfatasa alcalina, sistema promotor de triptófano (*trp*) y promotores híbridos como el promotor *tac*. Otros promotores bacterianos conocidos también son adecuados. Los promotores para su uso en sistemas bacterianos también contendrán una secuencia Shine-Dalgarno (S.D.) operativamente unida al ADN que codifica el anticuerpo anti-IL-36R humanizado.

Se conocen muchas secuencias promotoras eucariotas. Prácticamente todos los genes eucariotas tienen una región rica en AT ubicada aproximadamente de 25 a 30 bases aguas arriba del sitio donde se inicia la transcripción. Otra secuencia encontrada de 70 a 80 bases aguas arriba desde el inicio de la transcripción de muchos genes es una región CNCAAT donde N puede ser cualquier nucleótido. En el extremo 3' de la mayoría de los genes eucariotas hay una secuencia AATAAA que puede ser la señal para la adición de la cola poli A al extremo 3' de la secuencia de codificación. Todas estas secuencias se insertan adecuadamente en vectores de expresión eucariotas.

Los ejemplos de secuencias promotoras adecuadas para usar con huéspedes de levadura incluyen los promotores para la 3-fosfoglicerato quinasa u otras enzimas glicolíticas, tales como enolasa, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, hexoquinasa, piruvato descarboxilasa, fosfofructoquinasa, glucosa-6-fosfato isomerasa, 3-fosfoglicerato mutasa, piruvato quinasa, triosafofato isomerasa, fosfoglucosa isomerasa y glucoquinasa.

Los promotores inducibles tienen la ventaja adicional de la transcripción controlada por las condiciones de crecimiento. Estos incluyen regiones promotoras de levadura para la alcohol deshidrogenasa 2, isocitocromo C, fosfatasa ácida, enzimas derivadas asociadas con el metabolismo del nitrógeno, metalotioneína, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa y enzimas responsables de la utilización de maltosa y galactosa. Los vectores y promotores

adecuados para su uso en la expresión de levadura se describen adicionalmente en el documento EP 73.657. Los potenciadores de levadura también se usan ventajosamente con promotores de levadura.

La transcripción del anticuerpo anti-IL-36R humanizado de vectores en células huésped de mamífero está controlada, por ejemplo, por promotores obtenidos de los genomas de virus tales como el virus del poliovirus, el virus de la viruela aviar, el adenovirus (tal como Adenovirus 2), el virus del papiloma bovino, el virus del sarcoma aviar, el citomegalovirus, un retrovirus, el virus de la hepatitis B y el virus de simio 40 (SV40), de promotores de mamíferos heterólogos, por ejemplo, el promotor de actina o un promotor de inmunoglobulina, o de promotores de choque térmico, siempre que dichos promotores sean compatible con los sistemas de células huésped.

Los promotores temprano y tardío del virus SV40 se obtienen convenientemente como un fragmento de restricción de SV40 que también contiene el origen viral de replicación de SV40. El promotor temprano inmediato del citomegalovirus humano se obtiene convenientemente como un fragmento de restricción HindIII E. Un sistema para expresar ADN en huéspedes mamíferos usando el virus del papiloma bovino como vector se describe en la patente U.S. N° 4.419.446. Una modificación de este sistema se describe en la patente U.S. n° 4.601.978. Ver también Reyes et al., 1982, Nature 297: 598-601, que describe la expresión de ADNc de p-interferón humano en células de ratón bajo el control de un promotor de timidina quinasa del virus del herpes simple. Alternativamente, la repetición terminal larga del virus del sarcoma de Rous puede usarse como promotor.

Otro elemento útil que puede usarse en un vector de expresión recombinante es una secuencia potenciadora, que se usa para aumentar la transcripción de un ADN que codifica un anticuerpo anti-IL-36R humanizado por eucariotas superiores. Ahora se conocen muchas secuencias potenciadoras de genes de mamíferos (por ejemplo, globina, elastasa, albúmina, α -fetoproteína e insulina). Típicamente, sin embargo, se usa un potenciador de un virus de células eucariotas. Los ejemplos incluyen el potenciador SV40 en el lado tardío del origen de replicación (pb 100-270), el potenciador del promotor temprano del citomegalovirus, el potenciador de poliovirus en el lado tardío del origen de replicación y los potenciadores de adenovirus. Ver también Yaniv, 1982, Nature 297: 17-18 para una descripción de elementos potenciadores para la activación de promotores eucariotas. El potenciador puede empalmarse en el vector en una posición 5' o 3' con respecto a la secuencia que codifica el anticuerpo anti-IL-36R humanizado, pero preferiblemente está ubicado en un sitio 5' del promotor.

Los vectores de expresión usados en células huésped eucariotas (levaduras, hongos, insectos, plantas, animales, humanos o células nucleadas de otros organismos multicelulares) también pueden contener secuencias necesarias para la terminación de la transcripción y para estabilizar el ARNm. Dichas secuencias están comúnmente disponibles en las regiones no traducidas de 5' y, ocasionalmente 3', de ADN o ADNc eucariotas o virales. Estas regiones contienen segmentos de nucleótidos transcritos como fragmentos poliadenilados en la porción no traducida del ARNm que codifica el anticuerpo anti-IL-36R. Un componente útil de terminación de la transcripción es la región de poliadenilación de la hormona de crecimiento bovina. Ver WO94/11026 y el vector de expresión descrito en el mismo. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-IL-36R humanizados pueden expresarse usando el sistema CHEF. (Véase, por ejemplo, la Patente U.S. n° 5.888.809)

Las células huésped adecuadas para clonar o expresar el ADN en los vectores de la presente invención son las células procariotas, levaduras o eucariotas superiores descritas anteriormente. Los procariotas adecuados para este propósito incluyen eubacterias, tales como organismos Gram-negativos o Gram-positivos, por ejemplo, Enterobacteriaceae como *Escherichia*, por ejemplo, *E. coli*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, por ejemplo, *Salmonella typhimurium*, *Serratia*, por ejemplo, *Serratia marcescens* y *Shigella*, así como *Bacilli* como *B. subtilis* y *B. licheniformis* (por ejemplo, *B. licheniformis* 41 P descrito en DD 266,710 publicado el 12 de abril de 1989), *Pseudomonas* como *P. aeruginosa* y *Streptomyces*. Un huésped de clonación de *E. coli* preferido es *E. coli* 294 (ATCC 31.446), aunque otras cepas tales como *E. coli* B, *E. coli* X1776 (ATCC 31.537) y *E. coli* W3110 (ATCC 27.325) son adecuadas. Estos ejemplos son ilustrativos más que limitativos.

Además de los procariotas, los microbios eucariotas tales como hongos filamentosos o levaduras son huéspedes de clonación o expresión adecuados para vectores que codifican anticuerpos anti-IL-36 humanizados. *Saccharomyces cerevisiae*, o levadura de panadería común, es la más utilizada entre los microorganismos huéspedes eucariotas inferiores. Sin embargo, una serie de otros géneros, especies y cepas están comúnmente disponibles y útiles en este documento, como *Schizosaccharomyces pombe*; huéspedes de *Kluyveromyces* tales como, por ejemplo, *K. lactis*, *K. fragilis* (ATCC 12.424), *K. bulgaricus* (ATCC 16.045), *K. wickerhamii* (ATCC 24.178), *K. waltii* (ATCC 56.500), *K. drosophilae* (ATCC 36.906), *K. thermotolerans* y *K. marxianus*; *yarrowia* (EP 402.226); *Pichia pastoris* (EP 183.070); *Candida Trichoderma reesia* (EP 244,234); *Neurospora crassa*; *Schwanniomyces* como *Schwanniomyces occidentalis*; y hongos filamentosos como, por ejemplo, *Neurospora*, *Penicillium*, *Tolypocladium* y *Aspergillus* hospedadores como *A. nidulans* y *A. niger*.

Las células huésped adecuadas para la expresión del anticuerpo anti-IL-36R humanizado glicosilado se derivan de organismos multicelulares. Los ejemplos de células de invertebrados incluyen células de plantas e insectos, que incluyen, por ejemplo, numerosas cepas y variantes baculovirales y las correspondientes células huéspedes de insectos permisivas de huéspedes como *Spodoptera frugiperda* (oruga), *Aedes aegypti* (mosquito), *Aedes albopictus* (mosquito), *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta) y *Bombyx mori* (gusano de seda). Una variedad de cepas

virales para la transfección están disponibles públicamente por ejemplo, la variante L-1 del VPN de *Autographa californica* y la cepa Bm-5 del VPN de *Bombyx mori*, y dichos virus pueden usarse, particularmente para la transfección de células *Spodoptera frugiperda*.

- 5 Los cultivos de células vegetales de algodón, maíz, patata, soja, petunia, tomate y tabaco también se pueden utilizar como huéspedes.

En otro aspecto, la expresión de anti-IL-36R humanizado se lleva a cabo en células de vertebrados. La propagación de células de vertebrados en cultivo (cultivo de tejidos) se ha convertido en un procedimiento de rutina y las técnicas están ampliamente disponibles. Ejemplos de líneas celulares de mamífero huésped útiles son la línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651), línea de riñón embrionario humano (células 293 o 293 subclonadas para crecimiento en cultivo en suspensión, (Graham et al., 1977, J Gen Virol. 36: 59), células de riñón de hámster bebé (BHK, ATCC CCL 10), células de ovario de hámster chino-DHFR1 (CHO, Urlaub et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 ; por ejemplo, DG44), células de sertoli de ratón (TM4, Mather, 1980, Biol. Reprod. 23: 243-251), células de riñón de mono (CV1 ATCC CCL 70), células de riñón de mono verde africano (VERO-76, ATCC CRL-1587), células de carcinoma cervical humano (HELA, ATCC CCL 2), células de riñón canino (MDCK, ATCC CCL 34), células de hígado de rata de búfalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442), células de pulmón humano (W138, ATCC CCL 75), células hepáticas humanas (Hep G2, HB 8065), tumor mamario de ratón (MMT 060562, ATCC CCL51), células TR1 (Mather et al., 1982, Annals NY Acad. Sci. 383: 44-68), células MRC 5, FS4 células y línea de hepatoma humano (Hep G2).

Las células huésped se transforman con los vectores de expresión o clonación descritos anteriormente para la producción de anticuerpos anti-IL-36R humanizados y se cultivan en medios nutrientes convencionales modificados según sea apropiado para inducir promotores, seleccionar transformantes o amplificar los genes que codifican las secuencias deseadas.

Las células huésped usadas para producir un anticuerpo anti-IL-36R humanizado descrito en el presente documento pueden cultivarse en una variedad de medios. Medios disponibles comercialmente como Ham's F10 (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Missouri), Minimal Essential Medium ((MEM), (Sigma-Aldrich Co.), RPMI-1640 (Sigma-Aldrich Co.) y el medio Eagle modificado de Dulbecco ((DMEM), Sigma-Aldrich Co.) es adecuado para cultivar las células huésped. Además, cualquiera de los medios descritos en uno o más de Ham et al., 1979, Meth. Enz. 58: 44 , Barnes et al., 1980, Anal. Biochem. 102: 255, Patente U.S. N° 4.767.704, Patente U.S. n° 4.657.866, Patente U.S. n° 4.927.762, Patente U.S. n° 4.560.655, Patente U.S. n° 5.122.469 , WO 90/103430 y WO 87/00195 pueden usarse como medios de cultivo para las células huésped. Cualquiera de estos medios puede complementarse según sea necesario con hormonas y/u otros factores de crecimiento (como insulina, transferrina o factor de crecimiento epidérmico) , sales (como cloruro de sodio, calcio, magnesio y fosfato), tampones (como HEPES), nucleótidos (como adenosina y timidina), antibióticos (como gentamicina), oligoelementos (definidos como compuestos inorgánicos normalmente están presentes en concentraciones finales en el rango micromolar) y glucosa o una fuente de energía equivalente. También se pueden incluir otros suplementos en concentraciones apropiadas que serían conocidas por los expertos en la materia. Las condiciones de cultivo, tales como temperatura, pH y similares, son las que se usaron previamente con la célula huésped seleccionada para la expresión, y serán evidentes para el experto en la materia.

Cuando se usan técnicas recombinantes, el anticuerpo puede producirse intracelularmente, en el espacio periplásmico, o secretarse directamente en el medio. Si el anticuerpo se produce intracelularmente, las células pueden ser interrumpidas para liberar proteínas como primer paso. Los desechos particulados, ya sea células huésped o fragmentos lisados, pueden eliminarse, por ejemplo, mediante centrifugación o ultrafiltración. Carter et al., 1992, Bio/Technology 10: 163-167 describe un procedimiento para aislar anticuerpos que se secretan al espacio periplásmico de *E. coli*. Brevemente, la pasta celular se descongela en presencia de acetato de sodio (pH 3,5), EDTA y fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF) durante aproximadamente 30 minutos. Los restos celulares se pueden eliminar por centrifugación. Cuando el anticuerpo se secreta en el medio, los sobrenadantes de tales sistemas de expresión generalmente se concentran primero usando un filtro de concentración de proteína disponible comercialmente, por ejemplo, una unidad de ultrafiltración Amicon o Millipore Pellicon. Se puede incluir un inhibidor de la proteasa como PMSF en cualquiera de los pasos anteriores para inhibir la proteólisis y se pueden incluir antibióticos para prevenir el crecimiento de contaminantes adventicios. Se puede usar una variedad de métodos para aislar el anticuerpo de la célula huésped.

La composición de anticuerpos preparada a partir de las células puede purificarse usando, por ejemplo, cromatografía de hidroxilapatita, electroforesis en gel, diálisis y cromatografía de afinidad, siendo la cromatografía de afinidad una técnica de purificación típica. La idoneidad de la proteína A como ligando de afinidad depende de la especie y el isotipo de cualquier dominio Fc de inmunoglobulina que esté presente en el anticuerpo. La proteína A se puede usar para purificar anticuerpos que se basan en cadenas pesadas gamma1, gamma2 o gamma4 humanas (véase, por ejemplo, Lindmark et al., 1983 J. Immunol. Meth. 62: 1-13). La proteína G se recomienda para todos los isotipos de ratón y para gamma3 humano (véase, por ejemplo, Guss et al., 1986 EMBO J. 5: 1567-1575). Una matriz a la que se une un ligando de afinidad es con frecuencia agarosa, pero hay otras matrices disponibles. Las matrices mecánicamente estables, como el vidrio de poro controlado o el poli(estirenovinil)benceno permiten velocidades de flujo más rápidas y tiempos de procesamiento más cortos que los que se pueden lograr con agarosa. Cuando el anticuerpo comprende un dominio

CH₃, la resina Bakerbond ABX[™] (J. T. Baker, Phillipsburg, N.J.) es útil para la purificación. Otras técnicas para la purificación de proteínas, como el fraccionamiento en una columna de intercambio iónico, precipitación de etanol, HPLC de fase inversa, cromatografía sobre sílice, cromatografía sobre heparina, cromatografía SEPHAROSE[™] en una resina de intercambio aniónico o catiónico (como una columna de ácido poliaspártico), cromatografía de SDS-PAGE, y la precipitación de sulfato de amonio también están disponibles dependiendo del anticuerpo a recuperar.

Después de cualquier etapa de purificación preliminar, la mezcla que comprende el anticuerpo de interés y contaminantes puede someterse a cromatografía de interacción hidrofóbica de pH bajo usando un tampón de elución a un pH entre aproximadamente 2,5-4,5, típicamente realizado a bajas concentraciones de sal (por ejemplo, aproximadamente 0-0,25 M de sal).

También se describen en el presente documento ácidos nucleicos que se hibridan en condiciones de rigurosidad baja, moderada y alta, como se define en el presente documento, con toda o una porción (por ejemplo, la porción que codifica la región variable) de la secuencia de nucleótidos representada por una secuencia de polinucleótidos aislada que codifica un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de la presente invención. La porción de hibridación del ácido nucleico de hibridación tiene típicamente al menos 15 (por ejemplo, 20, 25, 30 o 50) nucleótidos de longitud. La porción de hibridación del ácido nucleico de hibridación es al menos 80%, por ejemplo, al menos 90%, al menos 95% o al menos 98%, idéntica a la secuencia de una porción o la totalidad de un ácido nucleico que codifica un polipéptido anti-IL-36R (por ejemplo, una región variable de cadena pesada o cadena ligera), o su complementario. Los ácidos nucleicos de hibridación del tipo descrito en el presente documento pueden usarse, por ejemplo, como una sonda de clonación, un cebador, por ejemplo, un cebador de PCR o una sonda de diagnóstico.

Usos no terapéuticos

Los anticuerpos descritos en el presente documento son útiles como agentes de purificación por afinidad. En este proceso, los anticuerpos se inmovilizan en una fase sólida tal como una resina de proteína A, usando métodos bien conocidos en la técnica. El anticuerpo inmovilizado se pone en contacto con una muestra que contiene la proteína IL-36R (o fragmento de la misma) para purificar, y luego el soporte se lava con un disolvente adecuado que eliminará sustancialmente todo el material de la muestra, excepto la proteína IL-36R, que está unida al anticuerpo inmovilizado. Finalmente, el soporte se lava con otro disolvente adecuado que liberará la proteína IL-36R del anticuerpo.

Los anticuerpos anti-IL-36R, por ejemplo, los anticuerpos anti-IL-36R humanizados, también son útiles en ensayos de diagnóstico para detectar y/o cuantificar la proteína IL-36R, por ejemplo, detectar la expresión de IL-36R en células, tejidos específicos, o suero. Los anticuerpos anti-IL-36R se pueden usar de forma diagnóstica para, por ejemplo, controlar el desarrollo o la progresión de una enfermedad como parte de un procedimiento de prueba clínica para, por ejemplo, determinar la eficacia de un régimen de tratamiento y/o prevención determinado. La detección se puede facilitar mediante el acoplamiento del anticuerpo anti-IL-36R. Los ejemplos de sustancias detectables incluyen varias enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes, materiales radiactivos, metales emisores de positrones que utilizan diversas tomografías de emisión de positrones e iones metálicos paramagnéticos no radiactivos. Véase, por ejemplo, la Patente U.S. n° 4.741.900 para iones metálicos que pueden conjugarse con anticuerpos para su uso como diagnóstico de acuerdo con la presente invención.

Los anticuerpos anti-IL-36R pueden usarse en métodos ex vivo para diagnosticar un trastorno asociado a IL-36R (por ejemplo, un trastorno caracterizado por una expresión anormal de IL-36R) o para determinar si un sujeto tiene un riesgo aumentado de desarrollar un trastorno asociado a IL-36R. Dichos métodos incluyen poner en contacto una muestra biológica de un sujeto con un anticuerpo IL-36R y detectar la unión del anticuerpo a IL-36R. Por "muestra biológica" se entiende cualquier muestra biológica obtenida de un individuo, línea celular, cultivo de tejidos u otra fuente de células que potencialmente expresen IL-36R. Los métodos para obtener biopsias de tejidos y fluidos corporales de mamíferos son bien conocidos en la técnica.

En algunas realizaciones, el método puede comprender además comparar el nivel de IL-36R en una muestra de paciente con una muestra de control (por ejemplo, un sujeto que no tiene un trastorno asociado con IL-36R) para determinar si el paciente tiene un trastorno asociado a IL-36R o está en riesgo de desarrollar un trastorno asociado a IL-36R.

Será ventajoso en algunas realizaciones, por ejemplo, para fines de diagnóstico, marcar el anticuerpo con una porción detectable. Están disponibles numerosos marcadores detectables, incluidos radioisótopos, marcadores fluorescentes, marcadores de sustrato enzimático y similares. El marcador se puede conjugar indirectamente con el anticuerpo usando diversas técnicas conocidas. Por ejemplo, el anticuerpo puede conjugarse con biotina y cualquiera de las tres amplias categorías de marcadores mencionadas anteriormente puede conjugarse con avidina, o viceversa. La biotina se une selectivamente a la avidina y, por lo tanto, el marcador puede conjugarse con el anticuerpo de esta manera indirecta. Alternativamente, para lograr la conjugación indirecta del marcador con el anticuerpo, el anticuerpo se puede conjugar con un hapteno pequeño (como digoxina) y uno de los diferentes tipos de marcadores mencionados anteriormente se conjuga con un anticuerpo anti-hapteno (por ejemplo, anticuerpo digoxina). Por lo tanto, se puede lograr la conjugación indirecta del marcador con el anticuerpo.

Los marcadores de radioisótopos ejemplares incluyen ^{35}S , ^{14}C , ^{125}I , ^3H y ^{131}I . El anticuerpo puede marcarse con el radioisótopo, utilizando las técnicas descritas en, por ejemplo, *Current Protocols in Immunology*, Volúmenes 1 y 2, 1991, Coligen et al., Ed. Wiley-Interscience, Nueva York, N.Y., Pubs. La radiactividad se puede medir, por ejemplo, mediante recuento de centelleo.

Los marcadores fluorescentes ejemplares incluyen marcadores derivadas de quelatos de tierras raras (quelatos de europio) o fluoresceína y sus derivados, rodamina y sus derivados, dansilo, lisamina, ficoeritrina y rojo Texas están disponibles. Los marcadores fluorescentes se pueden conjugar con el anticuerpo mediante técnicas conocidas, como las descritas en por ejemplo *Current Protocols in Immunology*. La fluorescencia se puede cuantificar usando un fluorímetro.

Existen varios marcadores de sustrato enzimático bien caracterizados conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, la Patente U.S. nº 4.275.149 para una revisión). La enzima generalmente cataliza una alteración química del sustrato cromogénico que se puede medir utilizando diversas técnicas. Por ejemplo, la alteración puede ser un cambio de color en un sustrato que puede medirse espectrofotométricamente. Alternativamente, la enzima puede alterar la fluorescencia o quimioluminiscencia del sustrato. Las técnicas para cuantificar un cambio en la fluorescencia se describen anteriormente. El sustrato quimioluminiscente se excita electrónicamente por una reacción química y luego puede emitir luz que se puede medir, usando un quimioluminómetro, por ejemplo, o dona energía a un receptor fluorescente.

Los ejemplos de marcadores enzimáticos incluyen luciferasas tales como luciferasa de luciérnaga y luciferasa bacteriana (patente U.S. Nº 4.737.456), luciferina, 2,3-dihidroftalazinedionas, malato deshidrogenasa, ureasa, peroxidasa tal como peroxidasa de rábano picante (HRPO), fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, glucoamilasa, lisozima, sacárido oxidasas (como glucosa oxidasas, galactosa oxidasas y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa), oxidasas heterocíclicas (como uricasa y xantina oxidasas), lactoperoxidasa, microperoxidasa y similares. Las técnicas para conjugar enzimas con anticuerpos se describen, por ejemplo, en O'Sullivan et al., 1981, *Methods for the Preparation of Enzyme-Antibody Conjugates for use in Enzyme Immunoassay*, en *Methods in Enzym.* (J. Langone y H. Van Vunakis, eds.), Academic press, N.Y., 73: 147-166.

Ejemplos de combinaciones enzima-sustrato incluyen, por ejemplo: peroxidasa de rábano picante (HRPO) con peroxidasa de hidrógeno como sustrato, en donde la peroxidasa de hidrógeno oxida un precursor de colorante como la ortofenilendiamina (OPD) o 3,3',5,5'-tetrametil bencidina clorhidrato (TMB); fosfatasa alcalina (AP) con para-nitrofenil fosfato como sustrato cromogénico; y β -D-galactosidasa (β -D-Gal) con un sustrato cromogénico tal como p-nitrofenil- β -D-galactosidasa o sustrato fluorogénico 4-metilumbeliferil- β -D-galactosidasa.

Numerosas otras combinaciones de enzima-sustrato están disponibles para los expertos en la materia. Para una revisión general de estos, ver la patente U.S. nº 4.275.149 y la patente U.S. nº 4.318.980.

En otra realización, el anticuerpo anti-IL-36R humanizado se usa sin marcar y se detecta con un anticuerpo marcado que se une al anticuerpo anti-IL-36R humanizado.

Los anticuerpos descritos en este documento pueden emplearse en cualquier método de ensayo conocido, tal como ensayos de unión competitiva, ensayos sandwich directos e indirectos y ensayos de inmunoprecipitación. Véase, por ejemplo, Zola, *Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques*, págs. 147-158 (CRC Press, Inc. 1987).

El anticuerpo anti-IL-36R o el fragmento de unión al antígeno del mismo puede usarse para inhibir la unión del ligando al receptor de IL-36. Dichos métodos comprenden administrar un anticuerpo anti-IL-36R o un fragmento de unión a antígeno del mismo a una célula (por ejemplo, una célula de mamífero) o entorno celular, por lo que se inhibe la señalización mediada por el receptor de IL-36. Estos métodos pueden realizarse in vitro o in vivo. Por "entorno celular" se entiende el tejido, el medio o la matriz extracelular que rodea una célula. El anticuerpo anti-IL-36R o el fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al entorno celular de una célula de tal manera que el anticuerpo o fragmento sea capaz de unirse a las moléculas de IL-36R fuera y alrededor de la célula, evitando así unión del ligando IL-36 a su receptor.

Kits de diagnóstico

Se puede usar un anticuerpo anti-IL-36R en un kit de diagnóstico, es decir, una combinación empaquetada de reactivos en cantidades predeterminadas con instrucciones para realizar el ensayo de diagnóstico. Cuando el anticuerpo está marcado con una enzima, el kit puede incluir sustratos y cofactores requeridos por la enzima, como un precursor de sustrato que proporciona el cromóforo o fluoróforo detectable. Además, se pueden incluir otros aditivos tales como estabilizadores, tampones (por ejemplo, un tampón de bloque o tampón de lisis) y similares. Las cantidades relativas de los diversos reactivos pueden variar ampliamente para proporcionar concentraciones en solución de los reactivos que optimicen sustancialmente la sensibilidad del ensayo. Los reactivos pueden proporcionarse como polvos secos, generalmente liofilizados, incluidos los excipientes que en la disolución proporcionarán una solución de reactivo que tiene la concentración apropiada.

Usos terapéuticos

En otra realización, un anticuerpo anti-IL-36R humanizado descrito en el presente documento es útil en el tratamiento de diversos trastornos asociados con la expresión de IL-36R como se describe en el presente documento. Un anticuerpo anti-IL36R humanizado para usar en el tratamiento de un trastorno asociado a IL-36R comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo anti-IL-36R humanizado para ser administrado a un sujeto que lo necesite.

El anticuerpo o agente anti-IL-36R humanizado se administrará por cualquier medio adecuado, que incluye administración parenteral, subcutánea, intraperitoneal, intrapulmonar e intranasal y, si se desea para el tratamiento inmunosupresor local, administración intralesional (incluyendo perfusión o de otro modo contacto del injerto con el anticuerpo antes del trasplante). El anticuerpo o agente anti-IL-36R humanizado puede administrarse, por ejemplo, como una infusión o como un bolo. Las infusiones parenterales incluyen administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea. Además, el anticuerpo anti-IL-36R humanizado se administra adecuadamente mediante infusión de pulso, particularmente con dosis decrecientes del anticuerpo. En un aspecto, la dosificación se administra mediante inyecciones, más preferiblemente inyecciones intravenosas o subcutáneas, dependiendo en parte de si la administración es breve o crónica.

Para la prevención o el tratamiento de la enfermedad, la dosis apropiada de anticuerpo dependerá de una variedad de factores tales como el tipo de enfermedad a tratar, como se definió anteriormente, la gravedad y el curso de la enfermedad, si el anticuerpo se administra con fines preventivos o terapéuticos, terapia previa, el historial clínico del paciente y la respuesta al anticuerpo, y el criterio del médico tratante. El anticuerpo se administra adecuadamente al paciente de una vez o durante una serie de tratamientos.

Dependiendo del tipo y la gravedad de la enfermedad, aproximadamente 1 µg/kg a 20 mg/kg (por ejemplo, 0,1-15 mg/kg) de anticuerpo es una dosis candidata inicial para la administración al paciente, ya sea, por ejemplo, por una o más administraciones separadas, o por infusión continua. Una dosis diaria típica puede variar de aproximadamente 1 µg/kg a 100 mg/kg o más, dependiendo de los factores mencionados anteriormente. Para administraciones repetidas durante varios días o más, dependiendo de la afección, el tratamiento se mantiene hasta que se produce la supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Sin embargo, otros regímenes de dosificación pueden ser útiles. El progreso de esta terapia se controla fácilmente mediante técnicas y ensayos convencionales. Un régimen de dosificación ejemplar es el descrito en el documento WO 94/04188.

El término "supresión" se usa en el presente documento en el mismo contexto que "mejora" y "alivio" para significar una disminución de una o más características de la enfermedad.

La composición de anticuerpos se formulará, dosificará y administrará de manera consistente con la buena práctica médica. Los factores a considerar en este contexto incluyen el trastorno particular que se trata, el mamífero particular que se trata, la condición clínica del paciente individual, la causa del trastorno, el lugar de entrega del agente, el método de administración, la programación de la administración, y otros factores conocidos por los médicos. La "cantidad terapéuticamente efectiva" del anticuerpo a administrar se regirá por tales consideraciones, y es la cantidad mínima necesaria para prevenir, mejorar o tratar el trastorno asociado con la expresión de IL-36R.

El anticuerpo no necesita ser, pero opcionalmente, está formulado con uno o más agentes usados actualmente para prevenir o tratar el trastorno en cuestión. La cantidad efectiva de tales otros agentes depende de la cantidad de anticuerpo anti-IL-36R humanizado presente en la formulación, el tipo de trastorno o tratamiento y otros factores discutidos anteriormente. Estos se usan generalmente en las mismas dosis y con las rutas de administración que se usaron anteriormente o aproximadamente del 1 al 99% de las dosis empleadas hasta ahora.

Composiciones farmacéuticas y administración de las mismas.

Una composición que comprende un agente de unión a IL-36R (por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-36R) puede administrarse a un sujeto que tiene o está en riesgo de tener un trastorno inmunológico, trastorno respiratorio o cáncer. La invención proporciona además el uso de un agente de unión a IL-36R (por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-36R) en la fabricación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de un cáncer, trastorno respiratorio o trastorno inmunológico. El término "sujeto" como se usa en el presente documento significa cualquier paciente mamífero al que se pueda administrar un agente de unión a IL-36, que incluye, por ejemplo, humanos y mamíferos no humanos, tales como primates, roedores y perros. Los sujetos específicamente destinados al tratamiento incluyen humanos. Los anticuerpos o agentes pueden administrarse solos o en combinación con otras composiciones en la prevención o el tratamiento del trastorno inmunológico, trastorno respiratorio o cáncer. Dichas composiciones que pueden administrarse en combinación con los anticuerpos o agentes incluyen metotrexato (MTX) e inmunomoduladores, por ejemplo, anticuerpos o moléculas pequeñas.

Ejemplos de anticuerpos para usar en tales composiciones farmacéuticas son aquellos que comprenden un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera de Id. de Sec. nº: 80; y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada de cualquiera de las Id. de Sec.

nº: 87-89.

Otros ejemplos de anticuerpos para usar en tales composiciones farmacéuticas también son aquellos que comprenden un anticuerpo humanizado o fragmento de anticuerpo que tiene la región variable de la cadena ligera y la región variable de la cadena pesada de cualquiera de las Id. de Sec. nº: 80 y 88, Id. de Sec. nº: 80 y 89, o Id. de Sec. nº: 80 y 87.

Otros ejemplos de anticuerpos para usar en tales composiciones farmacéuticas son también aquellos que comprenden un anticuerpo humanizado que tiene la secuencia de aminoácidos de la región de la cadena ligera de la Id. de Sec. nº: 118; y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada de cualquiera de las Id. de Sec. nº: 125, 126 o 127.

Otros ejemplos de anticuerpos para usar en tales composiciones farmacéuticas son también los que comprenden el anticuerpo B4, el anticuerpo B5 o el anticuerpo B6.

Se conocen diversos sistemas de administración y se pueden usar para administrar el agente de unión a IL-36R. Los métodos de introducción incluyen, entre otros, vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. El agente de unión a IL-36R puede administrarse, por ejemplo, mediante infusión, bolo o inyección, y puede administrarse junto con otros agentes biológicamente activos tales como agentes quimioterapéuticos. La administración puede ser sistémica o local. En realizaciones preferidas, la administración es por inyección subcutánea. Las formulaciones para tales inyecciones pueden prepararse, por ejemplo, en jeringas precargadas que pueden administrarse una vez cada dos semanas.

En realizaciones específicas, la composición del agente de unión a IL-36R se administra por inyección, por medio de un catéter, por medio de un supositorio, o por medio de un implante, siendo el implante un material poroso, no poroso o gelatinoso, incluida una membrana, como una membrana sialástica o una fibra. Típicamente, cuando se administra la composición, se usan materiales en los cuales el anticuerpo o agente anti-IL-36R no absorbe.

En otras realizaciones, el anticuerpo o agente anti-IL-36R se administra en un sistema de liberación controlada. En una realización, se puede usar una bomba (véase, por ejemplo, Langer, 1990, Science 249: 1527-1533; Sefton, 1989, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14: 201; Buchwald et al., 1980, Surgery 88: 507; Saudek et al., 1989, N. Engl. J. Med. 321: 574). En otra realización, se pueden usar materiales poliméricos. (Ver, por ejemplo, Medical Applications of Controlled Release (Langer y Wise eds., CRC Press, Boca Raton, Florida, 1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance (Smolen y Ball eds., Wiley, Nueva York, 1984); Ranger y Peppas, 1983, Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61. Ver también Levy et al., 1985, Science 228:190; During et al., 1989, Ann. Neurol. 25:351; Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 71:105.) Otros sistemas de liberación controlada se discuten, por ejemplo, en Langer, supra.

Un agente de unión a IL-36R (por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-36R) puede administrarse como composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva del agente de unión y uno o más ingredientes farmacéuticamente compatibles.

En realizaciones típicas, la composición farmacéutica se formula de acuerdo con procedimientos rutinarios como una composición farmacéutica adaptada para administración intravenosa o subcutánea a seres humanos. Típicamente, las composiciones para administración por inyección son soluciones en tampón acuoso isotónico estéril. Cuando sea necesario, el producto farmacéutico también puede incluir un agente solubilizante y un anestésico local como la lignocaína para aliviar el dolor en el sitio de la inyección. En general, los ingredientes se suministran por separado o se mezclan en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o concentrado sin agua en un recipiente herméticamente cerrado, como una ampolla o una bolsita que indica la cantidad de agente activo. Cuando el producto farmacéutico se va a administrar por infusión, se puede dispensar con una botella de infusión que contiene agua o solución salina estéril. Cuando el producto farmacéutico se administra por inyección, se puede proporcionar una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina para que los ingredientes se puedan mezclar antes de la administración.

Además, la composición farmacéutica puede proporcionarse como un kit farmacéutico que comprende (a) un recipiente que contiene un agente de unión a IL-36R (por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-36R) en forma liofilizada y (b) un segundo recipiente que contiene un diluyente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua estéril) para inyección. El diluyente farmacéuticamente aceptable puede usarse para la reconstitución o dilución del anticuerpo o agente liofilizado anti-IL-36R. Opcionalmente asociado con dicho(s) contenedor(es) puede haber una notificación en la forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos o biológicos, notificación que refleja la aprobación de la agencia de fabricación, uso o venta para la administración humana.

La cantidad del agente de unión a IL-36R (por ejemplo, anticuerpo anti-IL-36R) que es eficaz en el tratamiento o prevención de un trastorno inmunológico o cáncer puede determinarse mediante técnicas clínicas estándar. Además, los ensayos in vitro pueden emplearse opcionalmente para ayudar a identificar rangos de dosificación óptimos. La

dosis precisa que se empleará en la formulación también dependerá de la vía de administración y la etapa del trastorno inmunológico o cáncer, y debe decidirse de acuerdo con el criterio del profesional y las circunstancias de cada paciente. Las dosis efectivas se pueden extrapolar a partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de sistemas de prueba in vitro o de modelos animales.

En general, la dosis de un anticuerpo anti-IL-36R o un agente de unión a IL-36R administrado a un paciente con un trastorno inmunológico o cáncer que expresa IL-36R es típicamente de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg del peso corporal del sujeto. La dosis administrada a un sujeto es de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 15 mg/kg, o de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg del peso corporal del sujeto.

Las dosis ejemplares incluyen, pero sin limitación, de 1 ng/kg a 100 mg/kg. En algunas realizaciones, una dosis es de aproximadamente 0,5 mg/kg, aproximadamente 1 mg/kg, aproximadamente 2 mg/kg, aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 4 mg/kg, aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 6 mg/kg, aproximadamente 7 mg/kg, aproximadamente 8 mg/kg, aproximadamente 9 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 11 mg/kg, aproximadamente 12 mg/kg, aproximadamente 13 mg/kg, aproximadamente 14 mg/kg, aproximadamente 15 mg/kg o aproximadamente 16 mg/kg. La dosis puede administrarse, por ejemplo, diariamente, una vez por semana (semanalmente), dos veces por semana, tres veces por semana, cuatro veces por semana, cinco veces por semana, seis veces por semana, quincenal o mensualmente, cada dos meses, o cada tres meses. En realizaciones específicas, la dosis es de aproximadamente 0,5 mg/kg/semana, aproximadamente 1 mg/kg/semana, aproximadamente 2 mg/kg/semana, aproximadamente 3 mg/kg/semana, aproximadamente 4 mg/kg/semana, aproximadamente 5 mg/kg/semana, aproximadamente 6 mg/kg/semana, aproximadamente 7 mg/kg/semana, aproximadamente 8 mg/kg/semana, aproximadamente 9 mg/kg/semana, aproximadamente 10 mg/kg/semana, aproximadamente 11 mg/kg/semana, aproximadamente 12 mg/kg/semana, aproximadamente 13 mg/kg/semana, aproximadamente 14 mg/kg/semana, aproximadamente 15 mg/kg/semana o aproximadamente 16 mg/kg/semana. En algunas realizaciones, la dosis varía de aproximadamente 1 mg/kg/semana a aproximadamente 15 mg/kg/semana.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas que comprenden el agente de unión a IL-36R pueden comprender además un agente terapéutico, conjugado o no conjugado con el agente de unión. El anticuerpo anti-IL-36R o el agente de unión a IL-36R se pueden administrar conjuntamente en combinación con uno o más agentes terapéuticos para uso en el tratamiento o prevención de trastornos inmunológicos o cánceres.

Dicha administración de terapia combinada puede tener un efecto aditivo o sinérgico sobre los parámetros de la enfermedad (por ejemplo, la gravedad de un síntoma, el número de síntomas o la frecuencia de la recaída).

Con respecto a los regímenes terapéuticos para la administración combinatoria, en una realización específica, un anticuerpo anti-IL-36R o un agente de unión a IL-36R debe administrarse simultáneamente con un agente terapéutico. En otra realización específica, el agente terapéutico se debe administrar antes o después de la administración del anticuerpo anti-IL-36R o agente de unión a IL-36R, por al menos una hora y hasta varios meses, por ejemplo, al menos una hora, cinco horas, 12 horas, un día, una semana, un mes o tres meses, antes o después de la administración n del anticuerpo anti-IL-36R o agente de unión a IL-36R.

Artículos de fabricación

En otro aspecto, se incluye un artículo de fabricación que contiene materiales útiles para el tratamiento de los trastornos descritos anteriormente. El artículo de fabricación comprende un recipiente y una etiqueta. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas y tubos de ensayo. Los recipientes pueden estar formados por una variedad de materiales como vidrio o plástico. El recipiente contiene una composición que es efectiva para tratar la afección y puede tener un puerto de acceso estéril. Por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable con una aguja de inyección hipodérmica. El agente activo en la composición es el anticuerpo anti-IL-36R humanizado. La etiqueta en o asociada con el envase indica que la composición se usa para tratar la condición de elección. El artículo de fabricación puede comprender además un segundo recipiente que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde el punto de vista comercial y del usuario, incluidos otros tampones, diluyentes, filtros, agujas, jeringas y prospectos con instrucciones de uso.

La invención se describe adicionalmente en los siguientes ejemplos, que no pretenden limitar el alcance de la invención.

Los anticuerpos de la presente invención (anticuerpos humanizados B4, B5 y B6 basados en el anticuerpo principal de ratón 81B4) se describen adicionalmente en los siguientes ejemplos.

Ejemplos

Ejemplo 1: Identificación de anticuerpos anti-IL-36R humano

Se inmunizaron múltiples cepas de ratón con IL-36R humana producida de forma recombinante (ECD - dominio extracelular: aminoácidos 20-332 de Genbank nº acceso NP_003845) y las que generaron una fuerte respuesta de título tomada en la generación tradicional de hibridoma. Los productos de fusión que provocan una fuerte unión a la IL-36R humana (ECD) pero no se unen a la IL-1R1 humana (el miembro de la familia de IL-1R más relacionado) se subclonaron y se volvieron a analizar. Se identificaron múltiples hibridomas para producir anticuerpos monoclonales que unían y neutralizaban la señalización de IL-36R (véanse los ejemplos 2, 3 y 4). Los dominios variables se clonaron a partir de los hibridomas usando conjuntos de cebadores de PCR estándar. Los dominios variables y las CDR específicas de los anticuerpos monoclonales representativos se describen anteriormente. Todos los anticuerpos de ratón se convirtieron en anticuerpos quiméricos que consisten en dominios variables de ratón en dominios constantes humanos (hu IgG1KO/kappa). El hu IgG1KO (knock out) tiene dos mutaciones de reemplazo (Leu234Ala y Leu235Ala) que eliminan la actividad de ADCC y CDC al reducir las funciones efectoras como FcγR y la unión del complemento. Los dominios variables del ratón y los anticuerpos quiméricos son idénticos. Los anticuerpos quiméricos se generan para confirmar la función del anticuerpo y asegurar que se haya obtenido la secuencia de dominio variable correcta.

Ejemplo 2: afinidades de unión molecular de anticuerpos anti-IL-36R de ratón identificados

A) La cinética y las afinidades de unión de los anticuerpos anti-IL-36R que se unen a la IL-36R humana recombinante se midieron usando el Proteon (Bio-Rad, Hercules, CA) usando material generado a partir de hibridoma después de la purificación en una sola columna. Se estimó que las afinidades de unión de todos los ratones que conducen a la activación de IL-36R humana a una sola concentración de recubrimiento superficial de IL-36R es <100 pM. Las afinidades de unión de los anticuerpos de ratón a IL-36R humana se realizan a 7 densidades de superficie diferentes (ajuste global) se muestran en la Tabla 1. La unión de las IgG anti-IL36R quiméricas es equivalente a las derivaciones de ratón correspondientes.

Tabla 1: Afinidad de unión de anticuerpos anti-IL-36R de ratón.

Principal	Unión K _D (pM)
Ratón 73C5	57
Ratón 73F6	25
Ratón 78C8	63
Ratón 81A1	16
Ratón 81B4	24
Ratón 33D10	9

B) Selectividad molecular sobre IL-36R de ratón e IL-1R1 humana

Los anticuerpos anti-IL-36R de ratón y quiméricos también se inyectaron sobre una IL-36R de ratón o una superficie de IL-1 R1 humana a una concentración de 100 nM. La señal de unión al IL-36R de ratón y al IL-1 R1 humano para estos anticuerpos medidos usando el Octeto Fortebio (Fortebio, Menlo Park, CA) es cero, lo que indica que estos anticuerpos se unen selectivamente al IL-36R humano. La unión de los anticuerpos anti-IL-36R a la IL-36R humana también se analizó en presencia de suero humano al 50% y no se observó ningún efecto significativo del suero sobre la tasa de unión demostrando una alta especificidad.

Ejemplo 3: Potencia de los anticuerpos anti-IL-36R humanos quiméricos y de ratón en ensayos funcionales de humanos y cynomolgus.

Protocolos: Ensayos de liberación de pNFκB/citocina de células NCI/ADR-RES humanas.

Reactivos:

R&D Systems: rh truncada IL36β
R&D Systems: rh truncada IL36γ
R&D Systems: rh truncada IL36α:

MA6000 fosfo- NFκB (Ser536) Kit de lisado de células enteras
Meso Scale Diagnostics, LLC
MSD ELISA personalizado humanos ensayo de 4 puntos en 96 pocillos
Meso Scale Diagnostics, LLC

Las células NCI/ADR-RES se colocaron en placas a 45000 células/pocillo, en medio RPMI con suero al 0,25% en una placa de 96 pocillos. Se utilizó una placa para el análisis de pNFκB y otra para la liberación de citocinas. Las placas fueron incubadas durante la noche a 37 °C, 5% de CO₂. Los ligandos (IL36α, β o γ) y los anticuerpos se diluyeron a la concentración deseada 4x en medios con suero (SS). Se agregaron antagonistas (anticuerpos) a las células antes del

- ligando. Para pNFkB: las células NCI +/- ligando y antagonista se incubaron durante 1 hora, 37 °C, 5% de CO₂. Luego se aspiró el medio y las células se lisaron en 100 µl/pocillo de tampón de lisis completo en hielo 30 min. Luego se centrifugó el lisado a 2500 RPM, 20 min, 4 °C, y se transfirió a una placa ELISA para MSD y se analizó el pNFkB según el protocolo del fabricante. Para la liberación de citocinas: 18-24 horas después de la estimulación, los sobrenadantes se transfirieron a una placa ELISA para MSD y se analizaron para detectar citocinas según el protocolo del fabricante.

Protocolo: pNFkB (S536) ELISA MSD para células IL-36R BaF/3 de cynomolgus

- 10 Las células IL-36R BaF/3 de cynomolgus se colocaron en placas a 90.000 células/pocillo en medio SS en una placa de 96 pocillos. Se añadieron de 100 µl de medio a pocillos de control. Los antagonistas (anticuerpos) se diluyeron a la concentración deseada 4x y se añadieron 50 µl a cada pocillo. Los ligandos (IL36α, β o γ) se diluyeron a la concentración deseada 4x en medio SS y se añadieron 50 µl a cada pocillo (para un volumen final de 200 µl). Las placas se incubaron durante 15 minutos, 37 °C, 5% de CO₂. Las placas se centrifugaron brevemente, se aspiraron los medios y las células se lisaron en 100 µl/pocillo de tampón de lisis completo (véase el protocolo MSD pNFkB) y se incubaron en hielo 30 minutos. Los lisados se centrifugaron luego a 2500 RPM, 20 min, 4 °C y se transfirieron a una placa ELISA MSD. Luego se evaluaron los lisados para determinar la actividad de pNFkB usando el kit MSD como se describió anteriormente.
- 15
- 20 Resultados: los resultados de CI₉₀ para anticuerpos de ratón anti-IL-36R humano en ensayos funcionales humanos (pNFkB y liberación de citocinas) y un ensayo funcional de cynomolgus (pNFkB) con ligandos de IL-36 humanos se muestran en la Tabla 2. Los resultados de CI₉₀ para los anticuerpos anti-IL-36R humanos quiméricos en ensayos funcionales humanos (pNFkB y liberación de citoquinas) y un ensayo funcional de cynomolgus (pNFkB) con ligandos de IL-36 humanos se muestran en la Tabla 3.

Tabla 2: Potencia de anticuerpos de ratón en ensayos de células funcionales

(los controles de isotipo no demostraron inhibición de la actividad a la concentración más alta probada para muestras)		33D10	73C5	73F6F8	76E10E8	78C8D1	81A1D1	81B4E11	89A12B8	172C8B12	67E7E8
NCI/ADR-RES	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	1,7	3,4	2,8	ND	5,8	2,7	1,7	ND	ND	ND
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	1,3	3,4	3	ND	6,8	4,2	1,4	ND	ND	ND
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	1,1	2,5	1,5	1,9	4,6	2,2	1,2	145	3,8	> 67
GM-CSF	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	0,8	4,8	5,9	ND	7,1	1,2	0,8	ND	ND	ND
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	0,6	1,4	1,7	ND	2	1,2	0,3	ND	ND	ND
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	0,5	2	1,4	ND	1,7	0,7	0,4	ND	ND	ND
IL-6	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	0,8	19	19	ND	14	17	0,8	ND	ND	ND
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	0,5	3,8	5,1	ND	5,8	5,3	0,3	ND	ND	ND
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	0,3	1,9	2,2	ND	1,3	0,8	0,2	ND	ND	ND
IL-8	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	0,6	3,3	3,2	ND	4,7	1,9	0,7	ND	ND	ND
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	0,6	0,6	0,8	ND	1,1	0,5	0,2	ND	ND	ND
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	0,5	1,4	0,9	ND	1,4	0,5	0,3	ND	ND	ND
BaF cyno											
pNFκB	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	> 4000	0,2	0,5	> 4000	1	0,6	2,4	> 4000	> 4000	> 4000
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	> 333	1,6	0,7	> 333	2,1	0,9	3,5	> 333	> 333	> 333
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	> 333	1,5	0,8	> 333	1,5	1	5,1	> 333	> 333	> 333

Tabla 3: Potencia de anticuerpos quiméricos en ensayos de células funcionales

(los controles de isotipo no demostraron inhibición de la actividad a la concentración más alta probada para muestras)				
NCI/ADR-RES		C33D10	C73C5	C81B4
pNFkB	trun-IL-36a CI_{90} (nM)	1,9	2,1	1,3
	trun-IL-36b CI_{90} (nM)	2	0,9	0,9
	trun-IL-36g IC_{90} (nM)	1,3	1,8	0,4
GM- CSF	trun-IL-36a CI_{90} (nM)	0,3	0,9	ND
	trun-IL-36b IC_{90} (nM)	0,3	1,1	ND
	trun-IL-36g IC_{90} (nM)	0,3	0,7	ND
IL-6	trun-IL-36a CI_{90} (nM)	0,4	2,1	ND
	trun-IL-36b IC_{90} (nM)	0,6	6,7	ND
	trun-IL-36g IC_{90} (nM)	0,7	6	ND
IL-8	trun-IL-36a IC_{90} (nM)	0,4	0,7	0,4
	trun-IL-36b CI_{90} (nM)	0,3	0,4	0,1
	trun-IL-36g IC_{90} (nM)	0,2	0,4	0,1
TNF α	trun-IL-36a IC_{90} (nM)	2,4	2,5	ND
	trun-IL-36b CI_{90} (nM)	0,9	7,9	ND
	trun-IL-36g IC_{90} (nM)	0,6	1,3	ND
BaF cyno –				
pNFkB	trun-IL-36a IC_{90} (nM)	ND	1,2	42
	trun-IL-36b CI_{90} (nM)	ND	4,1	48
	trun-IL-36g IC_{90} (nM)	ND	4,3	28

Ejemplo 4: Unión de anticuerpos de ratón anti-IL-36R humana a células que expresan IL-36R humana

Protocolo para la unión de anticuerpos por citometría de flujo

Las células HEK293 transfectadas con células IL-36R o NCI/ADR-RES humanas de longitud completa se pasaron durante 24 horas antes de la tinción. Las células se retiraron de los matraces enjuagando con 10 ml de EDTA 5 mM en PBS, y luego se incubaron a 37 °C durante 10 minutos con 10 ml adicionales de EDTA 5 mM y 2,5 ml de Accumax para eliminar/dispersar las células. Luego, los anticuerpos se diluyeron a las concentraciones especificadas en PBS + 2% de BSA, y las células se incubaron durante 20 minutos a temperatura ambiente. El exceso de anticuerpo se lavó luego añadiendo 200 μ l de PBS y luego se centrifugó. Luego se añadió reactivo secundario a 50 μ l por pocillo y las células se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente y luego se lavaron como se indicó anteriormente. Las células se resuspendieron en 200 μ l de PBS y se analizaron por citometría de flujo. Las CE_{50} de unión para los anticuerpos de ratón anti-IL-36R humanos que se unen a los transfectantes HEK de IL-36R humanos se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4

Clon	CE_{50} (M) unión a células HEK-IL-36R
33D10	4,748e-010
67E7	5,321e-010
73F6	7,456e-010
76E10	4,257e-010
78C8	5,289e-010
81A1	2,795e-010
81B4	3,016e-010
89A12	6,089e-010

Ejemplo 5: Producción de anticuerpos IL-36R humanizados

Para reducir la inmunogenicidad potencial después de la administración en el hombre, los anticuerpos monoclonales de ratón anti-IL-36R humanos 81B4 y 73C5 se "humanizaron" mediante un proceso de diseño y selección. Las secuencias marco humanas se seleccionaron para las derivaciones de ratón basándose en la homología del marco, la estructura CDR, los residuos canónicos conservados, los residuos de empaquetamiento de la interfaz conservados y otros parámetros. La sustitución específica de residuos de aminoácidos en estas posiciones de marco puede mejorar varios aspectos del rendimiento de los anticuerpos, incluida la afinidad y/o estabilidad de unión, por encima de lo demostrado en los anticuerpos humanizados formados por "intercambio directo" de CDR o HVL en las regiones del marco de la línea germinal humana. Los Fab que mostraron una unión mejor o igual y una expresión mejorada en comparación con el Fab parental quimérico se seleccionaron para caracterización adicional. Las regiones variables humanizadas representativas para el anticuerpo 81B4 y 73C5 se muestran en la sección de especificaciones. De esta

manera, del Anticuerpo B1 al Anticuerpo B6 fueron anticuerpos humanizados derivados del anticuerpo de ratón 81B4 (clonado en un esqueleto IgG1 KO humano (KO = knock-out)/kappa. Los anticuerpos B1 a B6 se muestran en la Tabla A. Del anticuerpo C1 al Anticuerpo C3 fueron anticuerpos humanizados derivados del anticuerpo de ratón 73C5 (clonado en un esqueleto humano IgG1-KO (KO = knock-out)/kappa. Los anticuerpos C1 a C3 se muestran en la Tabla C.

Ejemplo 6: Unión de anticuerpos humanizados IL-36R

La cinética y las afinidades de unión de los anticuerpos anti-IL-36R humanizados que se unen a la IL-36R humana recombinante se midieron usando la proteína (Bio-Rad, Hercules, CA). La IL-36R humana se inmovilizó a 5 densidades de superficie diferentes y los resultados se analizaron usando ajuste global (véase la Tabla 5 que muestra los resultados de tres experimentos). La unión de los anticuerpos humanizados a las células NCI/ADR-RES mediante citometría de flujo se midió usando el protocolo descrito en el Ejemplo 4 (Ver Tabla 5 para los valores de CE_{90}).

Tabla 5 - Afinidades de unión molecular y celular de anticuerpos humanizados anti-IL-36R humanos.

Anticuerpo (LC + HC)	$K_D \pm$ Desviación estándar (pM)	CE_{90} (nM)
B1 - 32_138 + 33_49	$27 \pm 2,5$	2,0
B2 - 32_138 + 33_85	$32 \pm 5,4$	2,3
B3 - 32_138 + 33_90	$20 \pm 2,2$	1,4
B4 - 32_105 + 33_85	$35 \pm 3,7$	1,5
B5 - 32_105 + 33_90	$24 \pm 7,6$	1,7
B6 - 32_105 + 33_49	$41 \pm 4,9$	1,7

Ejemplo 7: potencia de los anticuerpos humanizados anti-IL-36R humanos en ensayos humanos funcionales

El bloqueo funcional de la señalización con las variantes IL-36R humanizadas de células NCI/ADR-RES humanas se ensayó como se describe en el Ejemplo 3. Los resultados de CI_{90} para los anticuerpos anti-IL-36R humanizados en ensayos funcionales humanos (pNFkB y citocina liberación) con ligandos de IL-36 humanos se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6: Potencia [CI_{90} (nM)] de anticuerpos humanizados en ensayos de células NCI/ADR-RES funcionales humanas

(Resultados promedios iguales de al menos 2 experimentos. Los controles de isotipo no demostraron inhibición de la actividad a la concentración más alta probada para muestras)										
	Ligando	B1	B2	B3	B4	B5	B6	C1	C2	C3
pNFkB	trun-IL-36a	3,9	5,3	2,3	1,7	2,6	1,8	4,6	9,7	9,8
	trun-IL-36b	3,4	3,4	2,9	2,2	2,8	2,4	5,5	8,6	5,6
	trun-IL-36g	2,5	2,3	2,1	1,5	1,5	1,5	3,4	6,1	5,1
IL-8	trun-IL-36a	4,0	2,8	2,3	2,6	2,6	2,2	NA	NA	NA
	trun-IL-36b	3,2	2,9	2,7	2,9	2,5	2,3	NA	NA	NA
	trun-IL-36g	4,2	3,5	3,4	3,2	2,8	2,4	NA	NA	NA

Ejemplo 8: Potencia de anticuerpos anti-IL-36R en ensayos de queratinocitos primarios humanos funcionales

Protocolos: Ensayos de liberación de pNFkB/citocinas epidérmicas primarias de queratinocitos humanos

Las células se sembraron en placas a 30.000 células/pocillo en medio de cultivo en placas de 96 pocillos y se incubaron durante la noche a 37 °C, 5% de CO₂. Luego se realizaron los ensayos como se describe en el Ejemplo 3. Resultados: los resultados de CI_{90} para anticuerpos anti-IL-36R de ratón, quiméricos y humanizados en ensayos de queratinocitos primarios humanos (liberación de pNFkB e IL-8) estimulados con ligandos de IL-36 humanos se muestran en Tabla 7, Tabla 8 y Tabla 9, respectivamente.

Tabla 7

(los controles de isotipo no demostraron inhibición de la actividad a la concentración más alta probada para muestras)							
NHK		33D10	73C5	73F6	78C8	81A1	81B4
pNFkB	trun-IL-36a CI_{90} (nM)	1,8	10,7	8,2	11,6	ND	1,3
	trun-IL-36b CI_{90} (nM)	2,3	14,4	5,2	14,2	ND	1,1
	trun-IL-36g CI_{90} (nM)	0,8	1,7	1,3	10,6	ND	0,5
IL-8	trun-IL-36a CI_{90} (nM)	1,5	20,8	17,8	19,3	ND	0,7
	trun-IL-36b CI_{90} (nM)	3,0	46	26	34	ND	1,2
	trun-IL-36g CI_{90} (nM)	0,8	2,4	2,1	3,6	ND	0,5

Tabla 8: Potencia de los anticuerpos quiméricos anti-IL-36R en ensayos de queratinocitos humanos primarios

(los controles de isotipo no demostraron inhibición de la actividad a la concentración más alta probada para muestras)				
NHK		C73C5	C81A1	C81B4
pNFkB	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	20,5	ND	1,4
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	8,3	7,1	1,8
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	1,4	ND	0,5
IL-8	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	29,7	23,4	1,2
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	49,3	87	11,1
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	3,6	1,2	0,3

Tabla 9: Potencia de anticuerpos anti-IL-36R humanizados en ensayos de queratinocitos humanos primarios

(los controles de isotipo no demostraron inhibición de la actividad a la concentración más alta probada para muestras)				
NHK		BI 1	BI 2	BI 3
pNFkB	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	2,9	2,1	2,2
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	3,6	2,9	1,9
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	1,0	1,3	0,7
IL-8	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	2,3	2,8	1,8
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	3,9	4,1	3,5
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	0,8	0,8	0,8

Ejemplo 9 Potencia de anticuerpos anti-IL-36R en ensayos de células epiteliales intestinales primarias humanas funcionales

Protocolos: ensayos de liberación de citocinas en células epiteliales intestinales primarias humanas

Las células se colocaron en placas a 30.000 células/pocillo en medio de cultivo en una placa de 96 pocillos y se incubaron durante la noche a 37 °C, 5% de CO₂. Luego se realizaron los ensayos como se describe en el Ejemplo 3.

Resultados: Los resultados de Cl₉₀ para anticuerpos anti-IL-36R de ratón en ensayos de células epiteliales intestinales primarias humanas (liberación de pNFkB e IL-8) estimulados con ligandos de IL-36 humanos se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10: Potencia de anticuerpos de ratón anti-IL-36R en ensayos primarios de células epiteliales intestinales humanas

(los controles de isotipo no demostraron inhibición de la actividad a la concentración más alta probada para muestras)			
HIE		73C5	81B4
pNFkB	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	21	1,3
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	20	7,4
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	32	9,5
IL-8	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	123	5,8
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	154	9,8
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	ND	16

Ejemplo 10: Potencia de anticuerpos anti-IL-36R en ensayos funcionales de miofibroblastos intestinales primarios humanos

Protocolos: ensayos de liberación de citocinas en miofibroblastos intestinales primarios humanos pNFkB

Las células se colocaron en placas a 30.000 células/pocillo en medio de cultivo en una placa de 96 pocillos y se incubaron a 37 °C, 5% de CO₂. Luego se realizaron los ensayos como se describe en el Ejemplo 3.

Resultados: Los resultados de Cl₉₀ para anticuerpos anti-IL-36R en ensayos de miofibroblastos intestinales primarios humanos (liberación de pNFkB e IL-8) estimulados con ligandos de IL-36 humanos se muestran en la Tabla 11 y la Tabla 12.

Tabla 11: Potencia de los anticuerpos anti-IL-36R de ratón y quiméricos en ensayos de miofibroblastos intestinales

humanos primarios

(los controles de isotipo no demostraron inhibición de la actividad a la concentración más alta probada para las muestras)			
HIM		81B4	C81B4
pNFkB	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	7	6,2
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	4	2,3
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	3,6	0,9
IL-8	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	2	2,3
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	2,3	1,4
	trun-IL-36 g Cl ₉₀ (nM)	2,9	2

Tabla 12: Potencia de los anticuerpos anti-IL-36R humanizados en ensayos de miofibroblastos intestinales humanos primarios

(los controles de isotipo no demostraron inhibición de la actividad a la concentración más alta probada para las muestras)				
HIM		B3	B5	B6
pNFkB	trun-IL- 36a Cl ₉₀ (nM)	9,8	5,4	3,2
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	3,7	1,7	2,8
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	2,6	1,7	3,7
IL-8	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	4,4	3,8	2,1
	trun-IL- 36b Cl ₉₀ (nM)	2,8	2,6	2,0
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	5,8	6,7	5,2

Ejemplo 11: Potencia de anticuerpos anti-IL-36R en ensayos funcionales de fibroblastos dérmicos primarios humanos

10 Protocolos: Ensayos de liberación de pNFkB/citocinas en fibroblastos dérmicos primarios humanos

Las células se colocaron en placas a 30.000 células/pocillo en medio de cultivo en una placa de 96 pocillos y se incubaron durante la noche a 37°C, 5% de CO₂. Luego se realizaron los ensayos como se describe en el Ejemplo 3.

15 Resultados: Los resultados de Cl₉₀ para anticuerpos anti-IL-36R en ensayos de fibroblastos dérmicos primarios humanos (liberación de pNFkB e IL-8) estimulados con ligandos de IL-36 humanos se muestran en la Tabla 13 y la Tabla 14.

20 Tabla 13: Potencia de anticuerpos anti-IL-36R de ratón y quiméricos en ensayos de fibroblastos dérmicos humanos primarios

(los controles de isotipo no demostraron inhibición de la actividad a la concentración más alta probada para las muestras)			
HDF		81B4	C81B4
pNFkB	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	1,9	1,8
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	4,9	3,4
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	3,9	7,4
IL-8	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	0,9	0,6
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	0,4	0,5
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	0,4	0,3

Tabla 14: Potencia de anticuerpos anti-IL-36R humanizados en ensayos primarios de fibroblastos dérmicos humanos

(los controles de isotipo no demostraron inhibición de la actividad a la concentración más alta probada para las muestras)				
HDF		B3	B5	B6
pNFkB	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	6,4	10,2	3,8
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	13,5	9,9	9
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	10	8,6	16,8
IL-8	trun-IL-36a Cl ₉₀ (nM)	2,1	1,5	1,4
	trun-IL-36b Cl ₉₀ (nM)	1,3	1,2	1
	trun-IL-36g Cl ₉₀ (nM)	1,1	1,1	0,7

Ejemplo 12: Potencia de anticuerpos anti-IL-36R de ratón en células tubulares proximales primarias humanas funcionales

Protocolo: Ensayos de liberación de pNFkB/citocinas en células tubulares proximales primarias humanas.

Las células se colocaron en placas a 5.000 células/pocillo en medio de cultivo en una placa de 96 pocillos y se incubaron durante la noche a 37 °C, 5% de CO₂. Los ensayos se realizaron como se describe en el Ejemplo 3.

Resultados: los resultados de CI₉₀ para anticuerpos anti-IL-36R de ratón, quiméricos y humanizados en ensayos de células tubulares proximales primarias humanas (liberación de IL-8) estimulados con ligandos de IL-36 humanos se muestran en la Tabla 15.

Tabla 15: Potencia de anticuerpos de ratón y humanos anti-IL-36R en ensayos primarios de células tubulares proximales humanas

(los controles de isotipo no demostraron inhibición de la actividad a la concentración más alta probada para muestras)					
HPT		81B4	B3	B5	B6
IL-8	trun-IL-36a CI ₉₀ (nM)	0,04	ND	5	ND
	trun-IL-36b CI ₉₀ (nM)	0,01	ND	5	ND
	trun-IL-36g CI ₉₀ (nM)	0,04	ND	3	ND

Ejemplo 13: Inhibición de la producción de IL-8 a partir de la epidermis humana reconstruida estimulada por IL-36γ.

Protocolo de epidermis reconstruida

Los anticuerpos anti-IL-36R (1,5 µg/ml) se incubaron previamente con epidermis humana reconstruida y se estimularon con IL-36γ recombinante humana (20 ng/ml). Se usó IL-1β humana recombinante (20 ng/ml; R&D Systems) como control positivo. Después de 24 horas en cultivo, se recogieron los sobrenadantes celulares y se analizaron para IL-8 (los ensayos para IL-8 se describen en el Ejemplo 3). Las muestras se analizaron por triplicado y el error estándar promedio pg/ml ± se muestra en la tabla a continuación (Tabla 16).

Tabla 16

Anticuerpos	Estimulación de citocinas	Promedio IL-8 (pg/ml) +/- Error estándar
Sin anticuerpo	Ninguno	57,3 ± 15,3
33D10	Ninguno	15,8 ± 0,7
Sin anticuerpo	20 ng/mL IL-1β	158,9 ± 13,3
33D10	20 ng/mL IL-1β	168,5 ± 22,6
Sin anticuerpo	20 ng/mL IL-36γ	142,1 ± 22,2
33D10	20 ng/mL IL-36γ	38,63 ± 6,7

Ejemplo 14: La inhibición de la expresión del gen S100A7 y S100A12 inducida por el ligando IL-36 en la epidermis humana reconstruida

La estimulación de la epidermis humana reconstruida con ligandos IL-36 agonsíticos induce la expresión del gen S100A7 y S100A12. S100A7 y S100A12 son genes ubicados dentro del complejo de diferenciación epidérmica.

Protocolo: La epidermis humana reconstruida se incubó con anticuerpos anti-IL-36R (1,5 µg/ml) y se estimuló con IL-36γ recombinante humana (20 ng/ml). Se usó IL-1β humana recombinante (20 ng/ml; R&D Systems) como control positivo. Después de 24 horas en cultivo a 5% de CO₂ y 37 °C, se aisló el ARN de la epidermis humana reconstruida y se analizó la expresión génica por reacción en cadena de la transcriptasa-polimerasa inversa en tiempo real. La expresión relativa se calculó utilizando el método 2^{-ΔΔCt}. Las muestras se analizaron por triplicado y la expresión promedio ± error estándar se muestra en la tabla a continuación (Tabla 17).

Tabla 17

Anticuerpo	Estimulación de citocina	Expresión media S100A7 +/- Error estándar	Expresión media S100A12 +/- Error estándar
Sin anticuerpo	Ninguno	1,00 ± 0,79	1,00 ± 0,47
33D10	Ninguno	3,92 ± 0,36	1,93 ± 0,02
Sin anticuerpo	20 ng/mL IL-1β	76,03 ± 24,66	47,84 ± 9,24
33D10	20 ng/mL IL-1β	95,83 ± 11,83	76,41 ± 6,92
Sin anticuerpo	20 ng/mL IL-36γ	19,57 ± 3,26	20,53 ± 5,21
33D10	20 ng/mL IL-36γ	3,47 ± 1,37	2,01 ± 0,35

Ejemplo 15: eficacia del anticuerpo anti-IL-36R en el modelo de psoriasis de xenotrasplante

Protocolo: Se obtuvieron biopsias de sangre y piel no lesional de 24 pacientes con psoriasis que fueron diagnosticados

clínicamente por un dermatólogo. Las biopsias de piel se trasplantaron en ratones NIH-III inmunodeficientes y se les permitió injertar durante un período de cuatro a cinco semanas.

Se aislaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de la sangre recogida de cada donante en el momento de la biopsia para inyección intradérmica en la piel injertada. Antes de la inyección, las PBMC se estimularon con 1 µg/ml de enterotoxina estafilocócica B (Toxin Technologies, Florida, EE. UU.) y 80 U/ml de IL-2 recombinante humana (Peprotech Inc., Oosterhout, Países Bajos). Las PBMC autólogas se inyectaron por vía intradérmica con $7,5 \times 10^5$ células en PBS para sincronizar la inducción de inflamación de la piel y el fenotipo de psoriasis. Tres semanas después de la inyección de células, se extrajeron las biopsias de los ratones y se analizaron por histología.

La tinción histológica se realizó en tejido de piel crioconservado de todos los grupos. Las secciones transversales diagonales (8 µm), que cubren todas las capas de la piel, se prepararon como se describe en la Figura 4. Para la evaluación del grosor epidérmico, se seleccionaron al azar dos secciones no seriales del centro de la biopsia y se tiñeron con hematoxilina-eosina. Posteriormente, las secciones se evaluaron con un aumento de 100 veces. A lo largo de toda la biopsia, las longitudes de cresta se midieron en ambas secciones usando una cámara Olympus DP71 y el software de imágenes Cell^D (V2.7, Munster, Alemania). La longitud de la cresta se define como: la distancia entre el borde superior del estrato granuloso y el fondo de la cresta. Las biopsias se puntuaron al azar y de forma cegada.

Los resultados para el grosor epidérmico promedio y el grosor epidérmico máximo para cada grupo de tratamiento se muestran en la Tabla 18. Los resultados para el cambio neto en el grosor epidérmico en cada grupo de tratamiento se muestran en la Tabla 19.

Tabla 18

Tratamiento	Espesor epidérmico promedio (µm)				Espesor epidérmico máximo (µm)			
	media	DE	N	MEE	media	DE	N	MEE
Sin tratar	101,4	34,4	16	8,6	147,1	35,0	16	8,7
Vehículo	106,0	31,9	9	10,6	151,6	48,9	9	16,3
33D10	93,4	24,1	10	7,6	130,9	30,8	10	9,7

Tabla 19

Tratamiento	Espesor epidérmico promedio (µm)				Espesor epidérmico máximo (µm)			
	media	DE	N	MEE	media	DE	N	MEE
Sin tratar	36,2	31,9	32	5,6	52,6	40,0	32	7,1
Vehículo	43,5	30,9	18	7,3	63,4	52,0	18	12,2
33D10	27,8	26,6	20	5,9	35,1	34,1	20	7,6

Ejemplo 16: La inflamación pulmonar subcrónica después de 3 semanas de exposición al humo de cigarrillos en ratones de tipo salvaje y ratones knockout homocigotos de receptor 2 similar de interleucina-1

Protocolo: Se expusieron ratones de tipo salvaje o de tipo receptor 2 similar de interleucina-1 al humo de cigarrillo durante 3 semanas para inducir ansiedad pulmonar. Las semanas 1 y 2 consistieron en 5 días de exposición consecutivos, mientras que los ratones fueron expuestos durante 4 días consecutivos durante la semana 3. Los ratones fueron expuestos a 5 cigarrillos cada día con intervalos de exposición de cigarrillos de 24 minutos (16 minutos) y aire fresco (8 minutos). Dieciocho horas después de la exposición final, los ratones fueron lavados con 2 x 0,8 ml de solución salina de Hank (EDTA 0,6 mM). El sobrenadante y el sedimento celular se recogieron del lavado alveolar bronquial después de la centrifugación durante 10 minutos. El recuento total de células de macrófagos y neutrófilos en el lavado alveolar bronquial para cada grupo de exposición se muestra en la Tabla 20.

Tabla 20

Células totales	Contaje de células x 10 ⁵			
Ratón	media	DE	N	MEE
WT	2,21	1,47	9	0,49
IL1 RL2 KO	2,45	0,87	6	0,36
WT + CS	9,07	2,83	10	0,90
IL-1RL2 KO + CS	5,32	1,03	10	0,32
Macrófagos	Contaje de células x 10 ⁵			
Ratón	media	DE	N	MEE
WT	2,08	1,62	9	0,54
IL1 RL2 KO	2,40	0,86	6	0,35
WT + CS	3,36	1,46	10	0,46
IL-1RL2 KO + CS	3,22	0,86	10	0,27

Neutrófilos	Contaje de células x 10 ⁵			
Ratón	media	DE	N	MEE
WT	0,002	0,004	9	0,001
IL1 RL2 KO	0,013	0,016	6	0,007
WT + CS	5,698	2,751	10	0,870
IL-1RL2 KO + CS	2,083	0,749	10	0,237

LISTADO DE SECUENCIAS

5 <110> BROWN, SU-ELLEN
 CANADÁ, KEITH
 CHLEWICKI, LUKASZ
 HOWELL, MICHAEL
 MENNERICH, DETLEV
 WOSKA JR., JOSEPH R.
 10 <120> ANTICUERPOS ANTI IL-36R
 <130> 09-0583
 15 <140>
 <141>
 <150> 61/713,713
 <151> 2012-10-15
 20 <150> 61/644,111
 <151> 2012-05-08
 <150> 61/560,554
 25 <151> 2011-11-16
 <160> 140
 <170> PatentIn versión 3.5
 30 <210> 1
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 35 <400>

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

1

ES 2 755 732 T3

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

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

Val Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
100 105

<210> 2
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 2

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

Glu Ser Val Thr Phe Thr Cys Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 3
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 3

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

Glu Ser Val Thr Phe Thr Cys Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp
20 25 30

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

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

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

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

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

5 <210> 4
<211> 112
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400>

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser
20 25 30

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

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

10

4

Ser His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 5
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético
<400> 5

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

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

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Asp Ser Lys Phe Pro Trp
85 90 95

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

<210> 6
<211> 108
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400>

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

Glu Arg Val Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Phe His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Leu Trp
35 40 45

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

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

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

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

<210> 7
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 7

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Val Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Asn
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 8
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 8

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Val Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Asn
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 9
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 9

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

Gly Arg Val Asn Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Arg Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 10

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

Glu Ser Val Thr Phe Ser Cys Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 11
<211> 119
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 11

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

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

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

Gly Glu Ile Leu Pro Ser Thr Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

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

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

Thr Ile Val Tyr Phe Gly Asn Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 12
<211> 125
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 12

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

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

Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

5

10

ES 2 755 732 T3

Gly Arg Thr Lys Asn Phe Tyr Ser Ser Tyr Ser Tyr Asp Asp Ala Met
100 105 110

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

<210> 13
<211> 124
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 13

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

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

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

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

Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Ser Phe Pro Asn Asn Tyr Tyr Ser Tyr Asp Asp Ala Phe Ala
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 14
<211> 118
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 14

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Lys Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Ile Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Pro Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met
50 55 60

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

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

Lys Gln Ile Tyr Tyr Ser Thr Leu Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

5

<210> 15
<211> 120
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 15

10

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

Ser Leu Phe Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Thr Gly Ile Thr Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Ile
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Leu Val Phe Leu
65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Thr Gly Thr Gly Phe Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 16
<211> 119
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 16

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Asp Phe Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Trp Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Asn Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

Arg Asn Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 17

<211> 119
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 17

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

10
 <210> 18
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 15
 <400> 18

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

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

Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe
65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 19
<211> 117
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 19

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

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

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Pro Val Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile His Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

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

Lys Met Asp Trp Asp Asp Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

ES 2 755 732 T3

<210> 20
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 20

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

<210> 21
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 21

10
 Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu His
 1 5 10
 15

<210> 22
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 22

20
 Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp Leu Ala
 1 5 10
 25

<210> 23

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 23

5

Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp Leu Gly
1 5 10

<210> 24
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 24

10

Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Gln
1 5 10 15

15

<210> 25
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 25

20

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

<210> 26
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 26

25

Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Phe His
1 5 10

30

<210> 27
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 27

35

Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Asn Val Leu
1 5 10

40

<210> 28
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 28

45

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Arg Ala Val Ala
1 5 10

<210> 29
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 29

50

Leu Ala Ser Gln Thr Ile Gly Thr Trp Leu Gly
1 5 10

55

<210> 30
 <211> 7

<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 30

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
5 **1** **5**

<210> 31
<211> 7
<212> PRT
10 <213> Mus sp.
<400> 31

Ala Ala Thr Ser Leu Ala Asp
1 **5**

15 <210> 32
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 32

20 **Arg Ser Thr Thr Leu Ala Asp**
1 **5**

<210> 33
<211> 7
25 <212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 33

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
30 **1** **5**

<210> 34
<211> 7
<212> PRT
35 <213> Mus sp.
<400> 34

Tyr Thr Ser Gly Leu His Ser
1 **5**

40 <210> 35
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 35

Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser
45 **1** **5**

<210> 36
<211> 7
<212> PRT
50 <213> Mus sp.
<400> 36

Ser Ala Ser Tyr Arg His Ser
1 **5**

<210> 37
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 5 <400> 37

Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5

 10 <210> 38
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 38

Arg Ala Thr Ser Leu Ala Asp
 15 **1 5**

 20 <210> 39
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 39

His Gln His His Arg Ser Pro Val Thr
1 5

 25 <210> 40
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético
 <400> 40

Gln Gln Val Tyr Thr Thr Pro Leu Thr
1 5

 35 <210> 41
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 41

 40 **Gln Gln Leu Tyr Ser Ala Pro Tyr Thr**
1 5

 45 <210> 42
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 42

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Phe Thr
 50 **1 5**

 55 <210> 43
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 43

Gln Gln Asp Ser Lys Phe Pro Trp Thr
 1 5
 <210> 44
 <211> 9
 5 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 44
 His Gln Phe His Arg Ser Pro Leu Thr
 1 5
 10 <210> 45
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 15 <400> 45
 Gln Gln Tyr Ser Arg Tyr Pro Leu Thr
 1 5
 20 <210> 46
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 46
 Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
 25 1 5
 <210> 47
 <211> 9
 <212> PRT
 30 <213> Mus sp.
 <400> 47
 Gln Gln Leu Tyr Ser Gly Pro Tyr Thr
 1 5
 35 <210> 48
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 48
 40 Gly Asn Thr Val Thr Ser Tyr Trp Met His
 1 5 10
 <210> 49
 <211> 10
 45 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 49
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn Tyr Met Asn
 1 5 10
 50 <210> 50
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 55 <400> 50

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

<210> 51
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 51

Gly Phe Ser Leu Thr Lys Phe Gly Val His
1 5 10

<210> 52
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 52

Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Glu Ile Asn
1 5 10

<210> 53
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 53

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser Trp Ile His
1 5 10

<210> 54
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 54

Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Val His
1 5 10

<210> 55
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 55

Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Gly Val His
1 5 10

<210> 56
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 56

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

<210> 57
<211> 17
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 57

Glu Ile Leu Pro Ser Thr Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe Lys
1 5 10 15

Gly

5 <210> 58
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 58

10 Arg Val Asn Pro Ser Asn Gly Asp Thr Lys Tyr Asn Gln Asn Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

15 <210> 59
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 59

20 Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Asp

25 <210> 60
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 60

30 Val Ile Trp Ala Gly Gly Pro Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met Ser
 1 5 10 15

35 <210> 61
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 61

40 Val Ile Trp Thr Gly Ile Thr Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Ile Ser
 1 5 10 15

45 <210> 62
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 62

50 Glu Ile Asn Pro Gly Asn Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
 1 5 10 15

55 <210> 63
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 63

Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Asp Phe Asn Ala Pro Phe Lys Ser
 1 5 10 15

55 <210> 64
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

<400> 64

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

5 <210> 65
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 65

Val Ile Trp Pro Val Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met Ser
1 5 10 15

15 <210> 66
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 66

Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Asp Pro Arg Phe Gln
1 5 10 15

20 Asp
 <210> 67
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 67

Val Tyr Phe Gly Asn Pro Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

30 <210> 68
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 68

Thr Lys Asn Phe Tyr Ser Ser Tyr Ser Tyr Asp Asp Ala Met Asp Tyr
1 5 10 15

40 <210> 69
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 69

Ser Phe Pro Asn Asn Tyr Tyr Ser Tyr Asp Asp Ala Phe Ala Tyr
1 5 10 15

50 <210> 70
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 70

Gln Ile Tyr Tyr Ser Thr Leu Val Asp Tyr
1 5 10

55 <210> 71
 <211> 12
 <212> PRT

<213> Mus sp.
<400> 71

Gly Thr Gly Thr Gly Phe Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 72
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 72

Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr
1 5 10

<210> 73
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 73

Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 74

Met Asp Trp Asp Asp Phe Phe Asp Tyr
1 5

<210> 75
<211> 15
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 75

Ser Phe Pro Asp Asn Tyr Tyr Ser Tyr Asp Asp Ala Phe Ala Tyr
1 5 10 15

<210> 76
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"
<400> 76

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 77

<211> 108

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

<400> 77

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

Ile Tyr Arg Thr Ser Ile Leu Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

ES 2 755 732 T3

50

55

60

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

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

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

<210> 78

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

<400> 78

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 79

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 755 732 T3

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

5 <400> 79

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

Glu Arg Ala Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 80

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

<400> 80

15

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

Glu Arg Ala Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

5 <210> 81
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<221> fuente
<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"
<400> 81

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

15 <210> 82
<211> 108
<212> PRT
20 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

5 <400> 82

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

Glu Arg Ala Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 83

<211> 108

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

20 <400> 83

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

Ile Tyr Arg Thr Ser His Leu Ala Ser Gly Ile Pro Gly Arg Phe Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 84

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

<400> 84

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg His Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 85

<211> 107

<212> PRT

ES 2 755 732 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

5 <400> 85

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg His Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 86

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

<400> 86

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg His Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 87

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

<400> 87

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Asn Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

Arg Asn Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 88
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"
 <400> 88

```

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Asn Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
          50          55          60

Arg Asn Arg Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65          70          75          80

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

Thr Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
          100          105          110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115
    
```

<210> 89
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"
 <400> 89

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Asn Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

Arg Asn Lys Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 90

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

<400> 90

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Asn Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

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

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

Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 91
<211> 119
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
10 <223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"
<400> 91

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

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

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

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Val Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

Arg Asn Lys Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 92

<211> 119

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

<400> 92

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Ala Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

Arg Asn Arg Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

15 <210> 93

<211> 119

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<221> fuente
<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"
<400> 93

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Leu Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

Arg Asn Lys Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

10 <210> 94
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
15 <220>
<221> fuente
<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"
<400> 94

ES 2 755 732 T3

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Ala Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

Arg Asn Lys Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

5

<210> 95

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

<400> 95

ES 2 755 732 T3

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Ser Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

Arg Asn Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 96

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

<400> 96

ES 2 755 732 T3

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30

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

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

Ser Arg Val Thr Ile Asn Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Ser Phe
65 70 75 80

Lys Met Ser Ser Val Gln Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 97

<211> 119

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

10 <400> 97

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30

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

ES 2 755 732 T3

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

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 98

<211> 119

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

10 <400> 98

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30

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

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

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 99

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

<400> 99

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30

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

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

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Phe
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Val Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 100

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

<400> 100

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

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

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

Gly Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Asp Phe Asn Ala Pro Phe Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Phe
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Thr Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 101

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

ES 2 755 732 T3

<223>/nota = "Descripción de la Secuencia Artificial: polipéptido sintético"

<400> 101

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30

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

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

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Ser Phe
65 70 75 80

Lys Met Ser Ser Val Thr Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

5

<210> 102

<211> 7

<212> PRT

10 <213> Mus sp.

<400> 102

Arg Thr Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

15

<210> 103

<211> 7 <212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 103

Arg Thr Ser Ile Leu Ala Ser
1 5

20

<210> 104

<211> 7

<212> PRT

25 <213> Mus sp.

<400> 104

Arg Thr Ser Arg Leu Ala Ser
 1 5
 5 <210> 105
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 105

Arg Thr Ser Gln Leu Ala Ser
 10 1 5
 <210> 106
 <211> 7
 <212> PRT
 15 <213> Mus sp.
 <400> 106

Arg Thr Ser Lys Leu Ala Ser
 1 5
 20 <210> 107
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 107
 25
Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr Ala Val His
 1 5 10
 <210> 108
 <211> 15
 30 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 108

Glu Ile Leu Pro Gly Val Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
 1 5 10 15
 35 <210> 109
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 40 <400> 109

Glu Ile Asn Pro Gly Ala Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
 1 5 10 15
 45 <210> 110
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 110

Glu Ile Asn Pro Gly Leu Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
 50 1 5 10 15
 <210> 111
 <211> 15
 <212> PRT
 55 <213> Mus sp.
 <400> 111

ES 2 755 732 T3

Glu Ile Asn Pro Gly Ser Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
1 5 10 15

<210> 112

<211> 330

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 112

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ES 2 755 732 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

5

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

10

<220>
<221> fuente
<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"
<400> 113

15

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

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

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

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

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

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

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

<210> 114

<211> 215

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 114

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

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

ES 2 755 732 T3

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 115

<211> 215

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 115

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

ES 2 755 732 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 116

<211> 215

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 116

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

ES 2 755 732 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 117

<211> 215

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

10 <400> 117

ES 2 755 732 T3

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

<210> 118
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<221> fuente
<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"
<400> 118

10

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 119

<211> 215

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 119

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 120

<211> 215

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 120

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

Glu Arg Ala Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 121
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"
<400> 121

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

Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

<210> 122
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"
 <400> 122

ES 2 755 732 T3

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

<210> 123
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <221> fuente
 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"
 <400> 123

10

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg His Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 124

<211> 214

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 124

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg His Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 125

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 125

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Asn Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

Arg Asn Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

15 Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

ES 2 755 732 T3

Pro 130	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys 135	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly 140	Thr	Ala	Ala	Leu
Gly 145	Cys	Leu	Val	Lys	Asp 150	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro 155	Val	Thr	Val	Ser	Trp 160
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu 165	Thr	Ser	Gly	Val	His 170	Thr	Phe	Pro	Ala	Val 175	Leu
Gln	Ser	Ser	Gly 180	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser 185	Ser	Val	Val	Thr	Val 190	Pro	Ser
Ser	Ser	Leu 195	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr 200	Ile	Cys	Asn	Val	Asn 205	His	Lys	Pro
Ser	Asn 210	Thr	Lys	Val	Asp	Lys 215	Arg	Val	Glu	Pro	Lys 220	Ser	Cys	Asp	Lys
Thr 225	His	Thr	Cys	Pro	Pro 230	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu 235	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro 240
Ser	Val	Phe	Leu	Phe 245	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys 250	Asp	Thr	Leu	Met	Ile 255	Ser
Arg	Thr	Pro	Glu 260	Val	Thr	Cys	Val	Val 265	Val	Asp	Val	Ser	His 270	Glu	Asp
Pro	Glu	Val 275	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr 280	Val	Asp	Gly	Val	Glu 285	Val	His	Asn
Ala	Lys 290	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu 295	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser 300	Thr	Tyr	Arg	Val
Val 305	Ser	Val	Leu	Thr	Val 310	Leu	His	Gln	Asp	Trp 315	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu 320
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val 325	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu 330	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu 335	Lys
Thr	Ile	Ser	Lys 340	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro 345	Arg	Glu	Pro	Gln	Val 350	Tyr	Thr

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

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

Lys

<210> 126

<211> 449

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 126

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Asn Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
 50 55 60

Arg Asn Arg Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

ES 2 755 732 T3

Thr Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

ES 2 755 732 T3

340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
435	440	445

Lys

<210> 127
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"
 <400> 127

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

ES 2 755 732 T3

				85					90					95		
Thr	Val	Val	Phe	Tyr	Gly	Glu	Pro	Tyr	Phe	Pro	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	
			100					105					110			
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
		115					120					125				
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	
	130					135					140					
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	
145					150					155					160	
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	
				165					170					175		
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	
			180					185					190			
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	
		195					200					205				
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	
	210					215					220					
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	
225					230					235					240	
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
				245					250					255		
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	
			260					265					270			
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
		275					280					285				
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
	290					295					300					
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
305					310					315					320	
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
				325					330					335		

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Lys

<210> 128

<211> 449

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 128

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Asn Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

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

ES 2 755 732 T3

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

Ala Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Lys

<210> 129

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 129

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

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

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

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Val Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

Arg Asn Lys Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

ES 2 755 732 T3

Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95
Thr	Val	Val	Phe	Tyr	Gly	Glu	Pro	Tyr	Phe	Pro	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	100	105	110
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	115	120	125
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	130	135	140
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	145	150	155
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	165	170	175
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	180	185	190
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	195	200	205
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	210	215	220
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	225	230	235
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	245	250	255
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	260	265	270
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	275	280	285
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	290	295	300
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	305	310	315
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	325	330	335

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Lys

<210> 130

<211> 449

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 130

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Ala Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

Arg Asn Arg Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

ES 2 755 732 T3

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

Thr Val Val Phe Tyr Gly Glu Pro Tyr Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

ES 2 755 732 T3

325 330 335

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Lys

<210> 131
<211> 449
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
10 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"
<400> 131

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Leu Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

Arg Asn Lys Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

ES 2 755 732 T3

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Lys

<210> 132

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 132

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

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

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

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Ala Val Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

5 Lys

<210> 133

<211> 449

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

15 <400> 133

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

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

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

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

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Lys

<210> 134

<211> 449

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

15 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 134

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

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

Lys

<210> 135
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <221> fuente
 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"
 <400> 135

10

```

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
          20          25          30

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

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

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65          70          75          80

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

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
          100          105          110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
          130          135          140

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

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

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

```

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

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

Lys

<210> 136

<211> 449

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 136

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
 20 25 30

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

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

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

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

ES 2 755 732 T3

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Lys

<210> 137

<211> 449

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

10 <400> 137

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30

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

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

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Phe
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Val Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

15

Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	145	150	155	160
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	165	170	175	
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	180	185	190	
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	195	200	205	
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	210	215	220	
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	225	230	235	240
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	245	250	255	
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	260	265	270	
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	275	280	285	
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	290	295	300	
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	305	310	315	320
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	325	330	335	
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	340	345	350	
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	355	360	365	

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Lys

<210> 138

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 138

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

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

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

Gly Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Asp Phe Asn Ala Pro Phe Lys
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Phe
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Thr Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290		295		300
Val Ser Val Leu Thr	Val Leu His Gln Asp	Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315		320
Tyr Lys Cys Lys Val	Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys			
	325	330		335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr				
	340	345		350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr				
	355	360		365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu				
	370	375		380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu				
	385	390		395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys				
	405	410		415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu				
	420	425		430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly				
	435	440		445

Lys

<210> 139

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 139

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

Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Lys

5

<210> 140
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus sp.
10 <400> 140

Arg Thr Ser His Leu Ala Ser
1 5

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo anti-IL-36R o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende:
 - a) una región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 80; y
 - b) una región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 87, Id. de Sec. nº: 88 o Id. de Sec. nº: 89.
2. El anticuerpo anti-IL-36R de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 118 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 125.
3. El anticuerpo anti-IL-36R de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 118 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 126.
4. El anticuerpo anti-IL-36R de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la Id. de Sec. nº: 118 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 127.
5. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
6. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, para uso en medicina.
7. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o composición farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el uso en medicina es el uso en un método para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria, de una enfermedad autoinmune, de una enfermedad respiratoria, de un trastorno metabólico, de un trastorno inflamatorio mediado por el epitelio, fibrosis o cáncer.
8. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o composición farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 6 o 7, en donde el uso en medicina es el uso en un método para el tratamiento de psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, EPOC, asma crónica o espondilitis anquilosante.
9. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o composición farmacéutica para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en donde el uso en medicina es el uso en un método para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal.
10. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o composición farmacéutica para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en donde el uso en medicina es el uso en un método para el tratamiento de la enfermedad de Crohn.
11. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o composición farmacéutica para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en donde el uso en medicina es el uso en un método para el tratamiento de la enfermedad de colitis ulcerosa.
12. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o composición farmacéutica para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en donde el uso en medicina es el uso en un método para el tratamiento de la pustulosis palmoplantar.
13. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno o composición farmacéutica para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en donde el uso en medicina es el uso en un método para el tratamiento de psoriasis pustular generalizada.
14. Un polinucleótido aislado que comprende una secuencia que codifica un anticuerpo anti-IL-36R o un fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, preferiblemente una secuencia de ADN o ARN.
15. El polinucleótido aislado de acuerdo con la reivindicación 14, que codifica
 - (a) una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 80, y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 87, 88 o 89; o

(b) una cadena ligera y una cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de Id. de Sec. nº: 118 y Id. de Sec. nº: 125, respectivamente; Id. de Sec. nº: 118 y Id. de Sec. nº: 126, respectivamente; o Id. de Sec. nº: 118 y Id. de Sec. nº: 127, respectivamente.

- 5 16. Un vector que comprende un polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 14 o 15, preferiblemente un vector de expresión, más preferiblemente un vector que comprende el polinucleótido de acuerdo con la invención en asociación funcional con una secuencia de control de la expresión.
- 10 17. Una célula huésped que comprende un polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 14 o 15, y/o un vector de acuerdo con la reivindicación 16.
- 15 18. Un método para la producción de un anticuerpo anti-IL-36R o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende el uso de un polinucleótido según la reivindicación 14 o 15, y/o de un vector según la reivindicación 16 y/o de una célula huésped según la reivindicación 17.
- 20 19. Un método de acuerdo con la reivindicación 18, que comprende los pasos (a) cultivar la célula huésped en condiciones que permitan la expresión del anticuerpo anti-IL-36R o fragmento de unión a antígeno y (b) recuperar el anticuerpo anti-IL-36R o fragmento de unión a antígeno.
- 25 20. Un kit de diagnóstico que comprende un anticuerpo anti-IL-36R o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 30 21. Un kit de diagnóstico de acuerdo con la reivindicación 20, para usar en un método de diagnóstico in vivo de una enfermedad inflamatoria, una enfermedad autoinmune, una enfermedad respiratoria, un trastorno metabólico, un trastorno inflamatorio mediado por el epitelio, fibrosis, cáncer, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, EPOC, asma crónica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn o enfermedad de colitis ulcerosa.
- 35 22. Un método de diagnóstico ex vivo que comprende el uso del anticuerpo anti-IL-36R o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
23. El método de diagnóstico ex vivo de acuerdo con la reivindicación 22, para el diagnóstico de una enfermedad inflamatoria, una enfermedad autoinmune, una enfermedad respiratoria, un trastorno metabólico, un trastorno inflamatorio mediado por el epitelio, fibrosis, cáncer, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, EPOC, asma crónica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn o enfermedad de colitis ulcerosa.

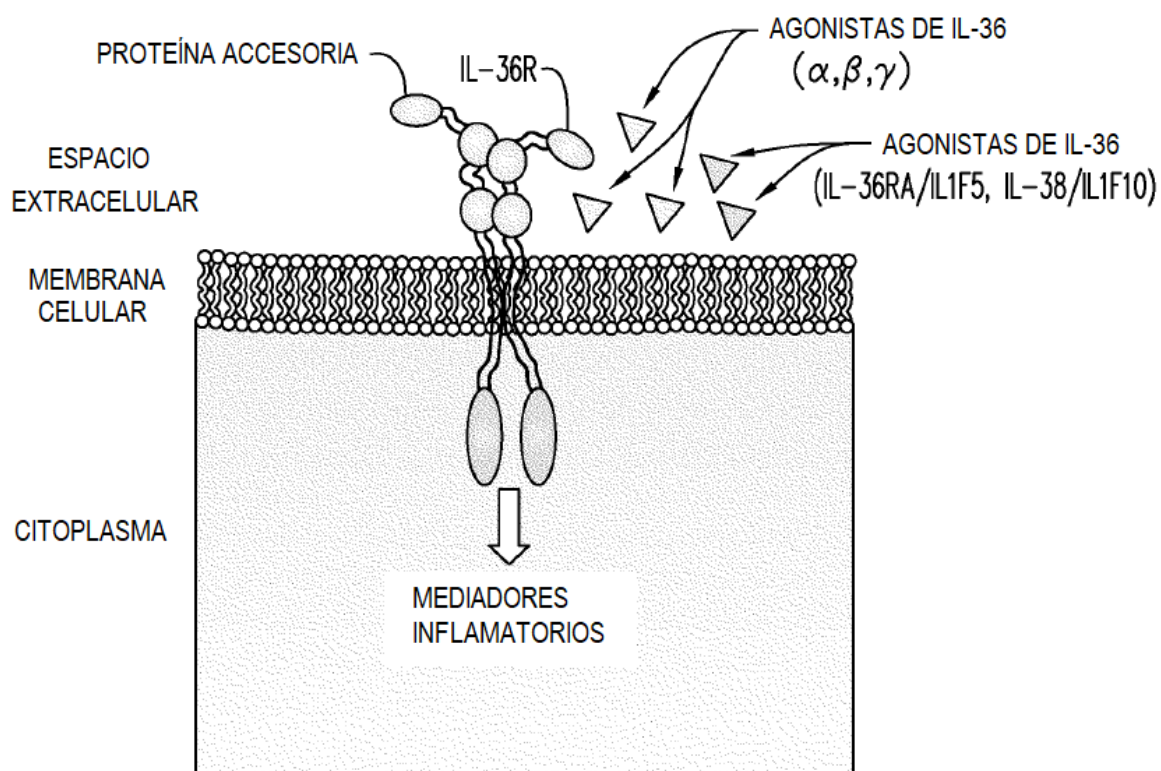


FIG. 1

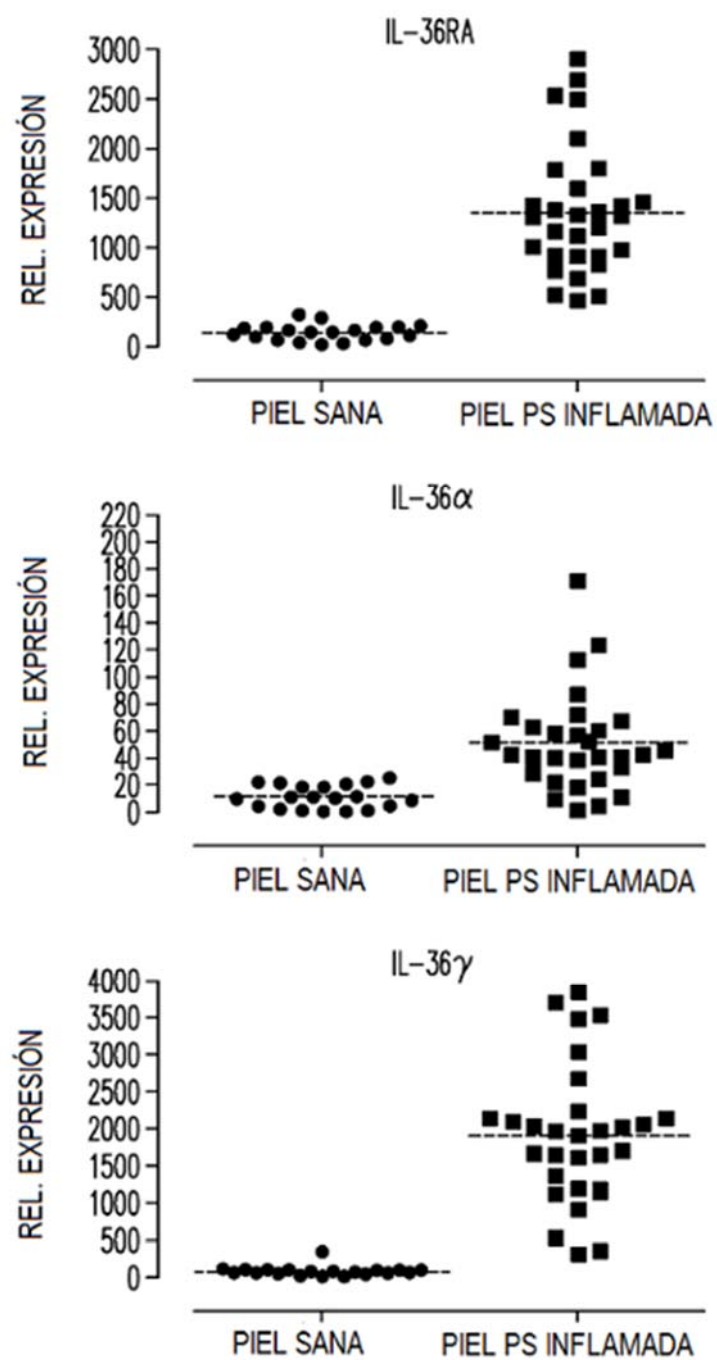


FIG. 2

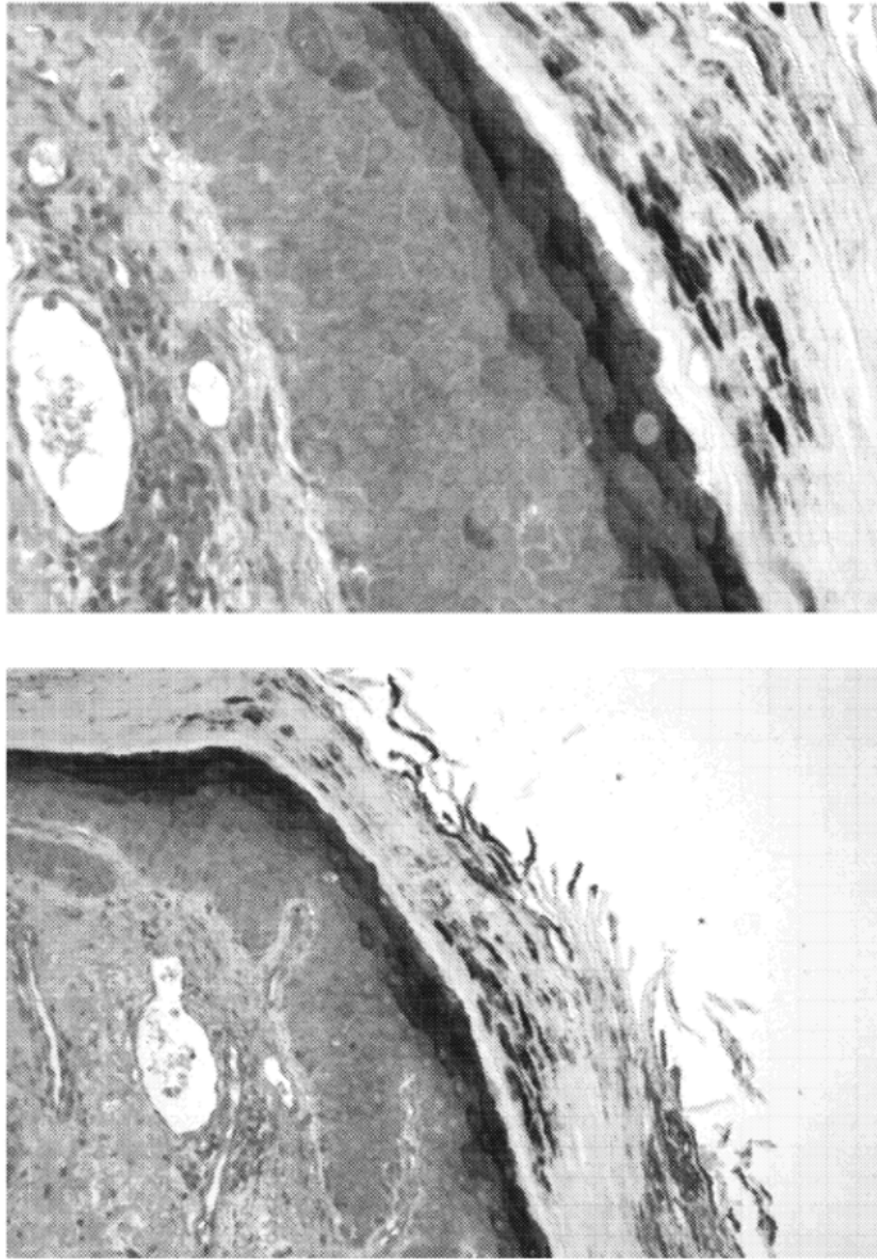


FIG. 3

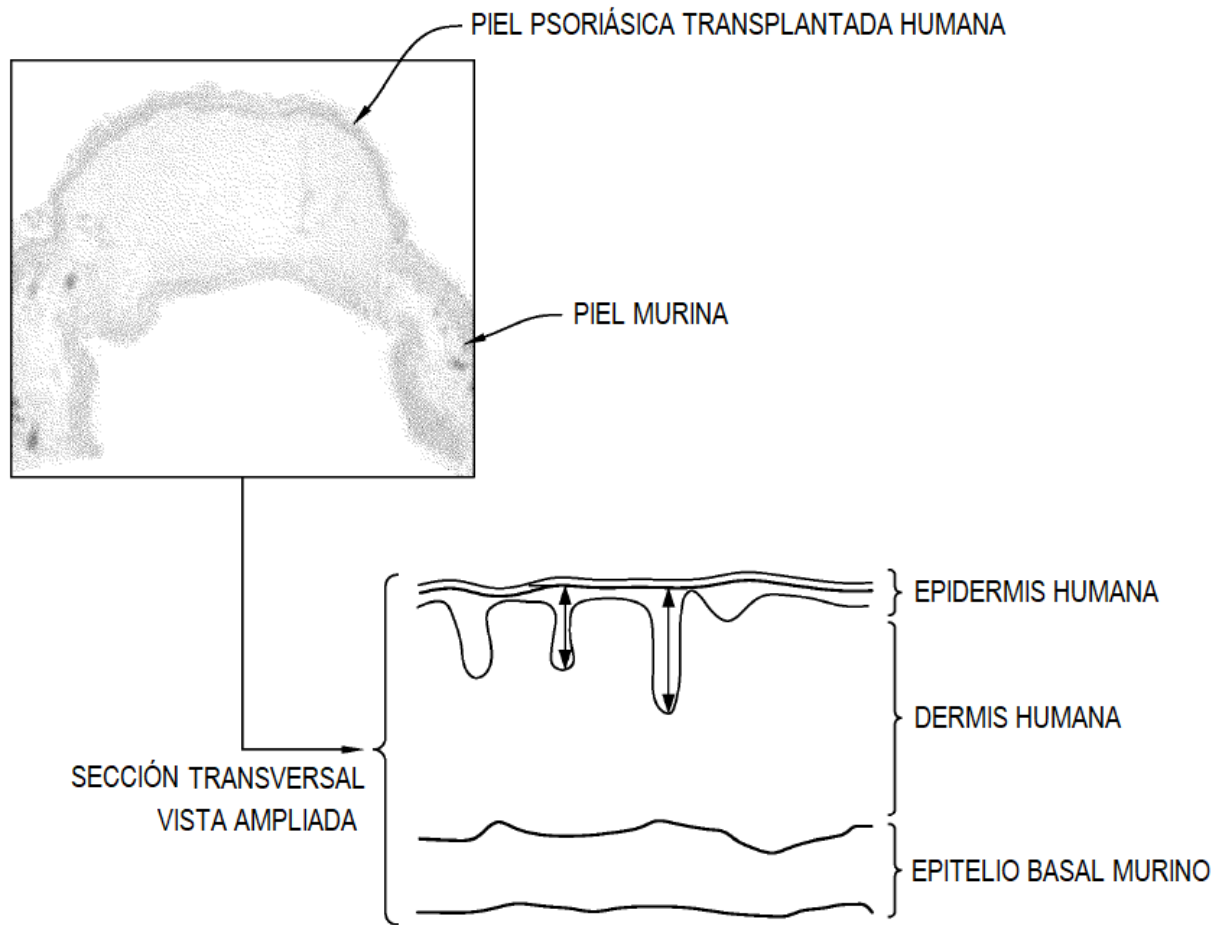


FIG. 4