

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 772 817**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 31/7105 (2006.01)

C07K 16/30 (2006.01)

C07K 16/44 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.04.2015 PCT/US2015/025305**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.10.2015 WO15157629**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.04.2015 E 15777370 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2020 EP 3129048**

54 Título: **Anticuerpos de unión a antígenos de carbohidrato asociados a tumor, composiciones farmacéuticas y sus usos**

30 Prioridad:

10.04.2014 US 201461977824 P

30.09.2014 US 201462057381 P

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

08.07.2020

73 Titular/es:

**OBI PHARMA INC. (100.0%)
Room W1907, 19F, 3 Yuan Qu Street
Taipei 115, TW**

72 Inventor/es:

**LAI, JIANN-SHIUN;
CHEN, I-JU;
WANG, CHENG-CHI;
TSAI, YI-CHIEN y
YU, CHENG-DER, TONY**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

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

ES 2 772 817 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 de unión a antígenos de carbohidrato asociados a tumor, composiciones farmacéuticas y sus usos

Campo técnico

La presente descripción se refiere a anticuerpos de antígenos de carbohidrato asociados a tumor, que incluyen porciones específicas o variantes específicas para al menos un antígeno de carbohidrato asociado a tumor o un fragmento del mismo, así como ácidos nucleicos que codifican dichos anticuerpos, ácidos nucleicos complementarios, vectores, células hospedantes y métodos de fabricación y uso de los mismos, que incluyen formulaciones terapéuticas y composiciones farmacéuticas que comprenden el anticuerpo. Adicionalmente, se describen métodos para administrar anticuerpos a un sujeto en una cantidad efectiva para inhibir células de cáncer.

Antecedentes

Numerosos carbohidratos superficiales son expresados en células tumorales malignas. Por ejemplo, se ha demostrado que Globo H (Fuc α 1 $\rightarrow$ 2Gal β 1 $\rightarrow$ 3GalNAc β 1 $\rightarrow$ 3Gal α 1 $\rightarrow$ 4Gal β 1 $\rightarrow$ 4Glc) está sobreexpresado en una variedad de cánceres epiteliales y se asocia a la agresividad tumoral y a un mal pronóstico en el cáncer de mama y el carcinoma pulmonar de célula pequeña. Estudios previos han demostrado que Globo H y el antígeno 3 embrionario específico de estadio (SSEA3, también denominado Gb5) se observan en células de cáncer de mama y en células madre de cáncer de mama (WW Chang et al. "Expression of Globo H and SSEA3 in breast cancer stem cells and the involvement of fucosyl transferases 1 and 2 in Globo H synthesis". PNAS, 105 (33): 11667-11672).

El documento US20120177663 proporciona anticuerpos que se unen específicamente a beta oligómeros amiloides solubles. El documento US20130144034 está dirigido a métodos para producir un compuesto de interés usando una célula hospedante microbiana. El documento WO 2006016569 muestra anticuerpos para inhibir las funciones de IGF-I e IGF-II humanas. El documento WO 2015143123 describe anticuerpos anti-Globo H. El documento WO 2004/005349 proporciona una revisión a alto nivel del anticuerpo IGN311, que se une a una proteína que esté glicosilada y que presenta un antígeno Lewis Y sobre la superficie. N. Cascinelli et al (Tumori. 1986, 30 junio; 72 (3): 267-71) describe que la inyección de anticuerpo MBr1 en pacientes de cáncer de mama conduce a una toxicidad insuficiente y que el nivel en suero del anticuerpo MBr1 dura 48 horas tras la inyección, y no parece ser efectivo en el tratamiento del cáncer de mama.

Estos descubrimientos apoyan el razonamiento para el desarrollo de anticuerpos de antígenos de carbohidrato asociados a tumor, ya que sigue existiendo una necesidad no cubierta de un tratamiento y/o prevención efectivos para el cáncer. La presente invención proporciona anticuerpos de antígenos de carbohidrato asociados a tumor para satisfacer éstas y otras necesidades.

Sumario de la invención

La presente descripción proporciona anticuerpos, o porciones de unión a antígeno de los mismos, que comprenden un dominio variable que se une a un antígeno de carbohidrato, versiones conjugadas de dichos anticuerpos tal como se describe en la presente memoria, en combinación con lo que se conoce en la técnica. El anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo puede presentar una constante de disociación (KD) de aproximadamente 10E-7 M o inferior, de aproximadamente 10E-8 M o inferior, de aproximadamente 10E-9 M o inferior, de aproximadamente 10E-10 M o inferior, de aproximadamente 10E-11 M o inferior, o de aproximadamente 10E-12 M o inferior. El anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo puede ser humanizado o quimérico.

En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene entre un 85% y el 100% de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 3 y un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene entre un 85% y el 100% de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 4, donde el anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo, se une a Globo H, y puede reaccionar de forma cruzada con un antígeno de carbohidrato asociado a tumor seleccionado entre sLex, sTn, Tn, sLea, α -NeuAc-OCH₂C₆H₄-p-NHCOOCH₂, Fuca1-2Gal β 1-4GalNAc β , NeuAca2-6Galb Gala1-3Galb1-4GlaNAcb, (NeuAca2-8)3, 6Gal-HSO₃-SiaLex, 6GluNAc-HSO₃-SiaLex, N-glicano dantenario α 2-6 sialilado o ácido polisialico.

En otra realización adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende un dominio variable de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 3, y un dominio variable de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 4.

También se describe un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de cadena pesada, donde la región de cadena pesada comprende tres regiones determinantes de la complementariedad (CDRs), CDR1, CDR2 y CDR3, que tienen secuencias de aminoácido que son entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homólogas a las secuencias de aminoácido establecidas en las SEQ ID NOs: 5, 6 y 7, respectivamente. En un ejemplo de realización, la cadena pesada comprende además una estructura entre una

secuencia líder y dicha CDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la SEQ ID NO: 87. En otra realización, la cadena pesada comprende además una estructura entre dicha CDR2 y dicha CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la SEQ ID NO: 89. En otro ejemplo adicional de realización, la cadena pesada comprende además una estructura entre dicha CDR1 y dicha CDR2 de la cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la SEQ ID NO: 11, donde la estructura contiene glicina en la posición 9 y el anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo se une a un Globo H.

También se describe un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de cadena ligera, donde la región de cadena ligera comprende tres CDRs, CDR1, CDR2 y CDR3, que tienen secuencias de aminoácido que son entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homólogas a las secuencias de aminoácido establecidas en las SEQ ID NOs: 8, 9 y 10, respectivamente. En un ejemplo de realización, la cadena ligera comprende además una estructura entre una secuencia líder y dicha CDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la SEQ ID NO: 88. En otra realización, la cadena ligera comprende además una estructura entre dicha CDR2 y dicha CDR3 de la cadena ligera, que tiene una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la SEQ ID NO: 90. En otro ejemplo adicional de realización, la cadena ligera comprende además una estructura entre dicha CDR1 y dicha CDR2 de la cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la SEQ ID NO: 12, donde la estructura contiene prolina en la posición 12, y el anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo se une a Globo H. En otro ejemplo adicional de realización, la cadena ligera comprende una estructura entre dicha CDR1 y dicha CDR2 de la cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la SEQ ID NO: 12, donde la estructura contiene triptófano en la posición 13, y el anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo se une a Globo H.

También se describe un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de cadena pesada y una región de cadena ligera, donde la región de cadena pesada comprende tres CDRs, CDR1, CDR2 y CDR3, que tienen secuencias de aminoácido que son entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homólogas a las secuencias de aminoácido establecidas en las SEQ ID NOs: 5, 6 y 7, respectivamente, y donde la región de cadena ligera comprende tres CDRs, CDR1, CDR2 y CDR3, que tienen secuencias de aminoácido que son entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homólogas a las secuencias de aminoácido establecidas en las SEQ ID NOs: 8, 9 y 10, respectivamente.

En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende: una región de cadena pesada, donde la región de cadena pesada comprende una CDR que tiene una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SEQ ID NOs: 5, 6 y 7. En otras realizaciones, se proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de cadena ligera, donde la región de cadena ligera comprende una CDR que tiene una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SEQ ID NOs: 8, 9 o 10.

La presente descripción también proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 13.

La presente descripción también proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende: un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 14.

La presente descripción también proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 13; y un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 14.

Un ejemplo de realización proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de cadena pesada, donde la región de cadena pesada comprende tres CDRs, CDR1, CDR2 y CDR3, que tienen secuencias de aminoácido que son entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homólogas a las secuencias de aminoácido establecidas en las SEQ ID NOs: 15, 16 y 17, respectivamente. Otro ejemplo de realización proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de cadena ligera, donde la región de cadena ligera comprende tres CDRs, CDR1, CDR2 y CDR3, que tienen secuencias de aminoácido que son entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homólogas a las secuencias de aminoácido establecidas en las SEQ ID NOs: 18, 19 y 20, respectivamente.

Otro ejemplo de realización proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de cadena pesada y una región de cadena ligera, donde la región de cadena pesada comprende tres CDRs, CDR1, CDR2 y CDR3, que tienen las secuencias de aminoácido que son entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homólogas a las secuencias de aminoácido establecidas en las SEQ ID NOs: 15, 16 y 17, respectivamente, y donde la región de cadena ligera comprende tres CDRs, CDR1, CDR2 y CDR3, que tienen secuencias de aminoácido que son entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homólogas a las secuencias de aminoácido establecidas en las SEQ ID NOs: 18, 19 y 20, respectivamente.

En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende: una región de cadena pesada, donde la región de cadena pesada comprende una CDR que tiene una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SEQ ID NOs: 15, 16 o 17. En otras realizaciones, se proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de cadena ligera, donde la región de cadena ligera comprende una CDR que tiene una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SEQ ID NOs: 18, 19 o 20.

Un aspecto de la presente descripción es un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 21.

Otro aspecto de la presente descripción es un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende: un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 22.

En otro aspecto adicional de la presente descripción es un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 21; y un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 22.

Un ejemplo de realización proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de cadena pesada, donde la región de cadena pesada comprende tres CDRs, CDR1, CDR2 y CDR3, que tienen las secuencias de aminoácidos que son entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homólogas a las secuencias de aminoácido establecidas en las SEQ ID NOs: 23, 24 y 25, respectivamente. Otro ejemplo de realización proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de cadena ligera, donde la región de cadena ligera comprende tres CDRs, CDR1, CDR2 y CDR3, que tienen las secuencias de aminoácidos que son entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homólogas a las secuencias de aminoácido establecidas en las SEQ ID NOs: 26, 27 y 28, respectivamente.

Otro ejemplo de realización proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de cadena pesada y una región de cadena ligera, donde la región de cadena pesada comprende tres CDRs, CDR1, CDR2 y CDR3, que tienen las secuencias de aminoácidos que son entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homólogas a las secuencias de aminoácido establecidas en las SEQ ID NOs: 23, 24 y 25, respectivamente, y donde la región de cadena ligera comprende tres CDRs, CDR1, CDR2 y CDR3, que tienen las secuencias de aminoácidos que son entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homólogas a las secuencias de aminoácido establecidas en las SEQ ID NOs: 26, 27 y 28, respectivamente.

En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende: una región de cadena pesada, donde la región de cadena pesada comprende una CDR que tiene una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SEQ ID NOs: 23, 24 o 25. En otras realizaciones, se proporciona un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de cadena ligera, donde la región de cadena ligera comprende una CDR que tiene una secuencia de aminoácidos que es entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% homóloga a la secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SEQ ID NOs: 26, 27 o 28.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo, o porción de unión a antígeno del mismo, descrito en la presente memoria y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

También se describe un método para inhibir las células de cáncer que expresan Globo H, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad efectiva del anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria, donde las células de cáncer que expresan Globo H son inhibidas.

La presente invención también proporciona clones de hibridoma designados como 2C2 (depositados con el número de acceso de la "American Type Culture Collection" (ATCC) PTA-121138), 3D7 (depositados con el número de acceso de la "American Type Culture Collection" (ATCC) PTA-121310), y 7A11 (depositados con el número de acceso de la

“American Type Culture Collection” (ATCC) PTA-121311), y anticuerpos o porciones de unión a antígeno producidos a partir de los mismos.

Breve descripción de las figuras

5 **Figura 1:** es una representación lineal que muestra el efecto de PBS, mAbs Globo H-VK9, mAbs Globo H-2C2 y mAb Globo H-3D7 sobre el volumen de cáncer pancreático (HPAC) en ratones.

Figura 2: es una representación lineal que muestra el efecto de salino normal y diferentes dosis de mAbs Globo H-2C2 sobre el volumen de cáncer de mama (MCF7) en ratones.

10 **Figuras 3A-3F:** son gráficos de barras que muestran la afinidad de unión de mAb H-2C2 (Fig. 3A), mAb Globo H-7A11 (Fig. 3B), mAb Globo H-3D7 (Fig. 3C), mAb Globo H-2F8 (Fig. 3D), mAb Globo H-1E1 (Fig. 3E) y mAb Globo H-VK9 (Fig. 3F) con diversos antígenos de carbohidratos.

Descripción detallada de la invención

Tal como se usan en la presente memoria, los artículos “un” y “una” se refieren a uno o más de uno (es decir, al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, “un elemento” significa un elemento o más de un elemento.

15 Una “cantidad efectiva”, tal como se usa en la presente memoria, se refiere a una dosis de la vacuna o composición farmacéutica que es suficiente para reducir los síntomas y signos de cáncer, tal como pérdida de peso, dolor y masa palpable, que es detectable, tanto clínicamente como masa palpable como radiológicamente a través de diversos medios de imagen. Los términos “cantidad efectiva” y “cantidad terapéuticamente efectiva” se usan de forma intercambiable.

20 El término “sujeto” puede referirse a un vertebrado que tiene cáncer o a un vertebrado que se considere que necesita tratamiento contra el cáncer. Los sujetos incluyen todos los animales de sangre caliente, tal como mamíferos, tal como un primate, y, más preferiblemente, un humano. Los primates no humanos también son sujetos. El término sujeto incluye animales domesticados, tal como gatos, perros, etc., ganado (por ejemplo, vacas, caballos, perros, ovejas, cabras, etc.) y animales de laboratorio (por ejemplo, ratón, conejo, rata, gerbo, cobaya, etc.). Por tanto, en la presente memoria se contemplan usos veterinarios y formulaciones médicas.

25 En la presente memoria todos los números son aproximaciones y pueden venir modificados por “aproximadamente”.

La presente descripción proporciona composiciones farmacéuticas y métodos para el tratamiento o la inhibición de células de cáncer. Las composiciones farmacéuticas comprenden anticuerpos que reconocen el antígeno de carbohidrato, que incluyen anticuerpos monoclonales de ratón, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos o porciones de unión a antígeno de cualquiera de los anteriores. Dichos anticuerpos (o porción de unión a antígeno de los mismos) pueden neutralizar el antígeno de carbohidrato, y/o inhibir células de cáncer. Por lo tanto, los presentes anticuerpos, o la porción de unión a antígeno de los mismos, pueden usarse en el tratamiento o la inhibición de células de cáncer.

35 Los anticuerpos descritos en la presente memoria incluyen cualquier proteína o péptido que comprende al menos una región determinante de la complementariedad (CDR) de una cadena pesada o ligera, o una porción de unión a ligando de la misma, derivada de un anticuerpo producido por el hibridoma designado 2C2 (depositado bajo el número de acceso de ATCC PTA-121138), el hibridoma designado 3D7 (depositado bajo el número de acceso de ATCC PTA-121310), o el hibridoma designado 7A11 (depositado bajo el número de acceso ATCC PTA-121311) descritos en la presente memoria. Los anticuerpos incluyen fragmentos de anticuerpo, variantes de anticuerpo, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales y anticuerpos recombinantes y similares. Los anticuerpos pueden generarse en ratones, conejos o humanos.

Se describen adicionalmente anticuerpos monoclonales quimerizados o humanizados generados a partir de anticuerpos de la presente invención.

45 Así, los anticuerpos anti-cáncer descritos en la presente memoria incluyen en combinación con una región variable de cadena pesada o de cadena ligera, una región constante de cadena pesada o de cadena ligera, una región de estructura, o cualquier porción de las mismas, de origen no murino, preferiblemente de origen humano, que pueden incorporarse a un anticuerpo de la presente invención.

Los anticuerpos de la presente invención son capaces de modular, reducir, antagonizar, mitigar, aliviar, bloquear, inhibir, suprimir y/o interferir con al menos una actividad de célula cancerosa que expresa Globo-H *in vitro*, *in situ* y/o *in vivo*.

50 El término “anticuerpo” pretende abarcar adicionalmente anticuerpos, fragmentos de digestión, porciones especificadas y variantes de los mismos, que incluyen miméticos de anticuerpo o que comprenden porciones de anticuerpos que imitan la estructura y/o la función de un anticuerpo anticáncer o de un fragmento especificado o porción del mismo, que incluye anticuerpos de cadena sencilla y fragmentos de los mismos, que contienen cada uno

al menos una CDR derivada de un anticuerpo anticáncer de la presente invención. Los fragmentos funcionales incluyen fragmentos de unión a antígeno que se unen a células de cáncer que expresan Globo-H. Por ejemplo, los fragmentos de anticuerpo capaces de unirse a células de cáncer de expresión de Globo-H, o a porciones de las mismas, que incluyen, aunque sin limitación, fragmentos Fab (p.ej., mediante digestión de papaína), Fab' (p.ej., mediante digestión de pepsina y reducción parcial) y F(ab')₂ (p.ej., mediante digestión de pepsina), facb (p.ej., mediante digestión de plasmina), pFc' (p.ej., mediante digestión de pepsina o de plasmina), Fd (p.ej., mediante digestión de pepsina, reducción parcial y reagregación), Fv o scFv (p.ej., mediante técnicas de biología molecular), son contemplados por la invención (véase, p.ej., Colligan, Immunology, ver anterior).

Tal como se usa en la presente memoria, 2C2 se refiere al clon de hibridoma o a los anticuerpos generados por el correspondiente clon de hibridoma.

Una porción de unión a antígeno de un anticuerpo puede incluir una porción de un anticuerpo que se une específicamente a un antígeno de carbohidrato (p.ej., Globo H, SSEA-3 o SSEA-4).

El anticuerpo humanizado descrito en la presente memoria es un anticuerpo de una especie no humana, en el que la secuencia de aminoácidos en las regiones de unión a no antígeno (y/o las regiones de unión a antígeno) han sido alteradas de tal modo que el anticuerpo se asemeja más a un anticuerpo humano, pero manteniendo su capacidad de unión original.

Los anticuerpos humanizados pueden generarse reemplazando secuencias de la región variable que no están implicadas directamente en la unión a antígeno con secuencias equivalentes procedentes de regiones variables humanas. Los métodos incluyen aislar, manipular y expresar las secuencias de ácido nucleico que codifican la totalidad o parte de las regiones variables de al menos una de las cadenas pesadas o ligeras. Las fuentes de ácido nucleico son bien conocidas por los especialistas en la técnica. A continuación se puede clonar ADN recombinante que codifica el anticuerpo humanizado, o un fragmento del mismo, en un vector de expresión apropiado.

Una región variable de cadena ligera o pesada de un anticuerpo comprende una región estructural interrumpida por tres regiones hipervariables, referidas como CDRs. En una realización, los anticuerpos humanizados son moléculas de anticuerpo de especies no humanas que tienen una, dos o todas las CDRs de la especie no humana, y una, dos o las tres regiones estructurales de una molécula de inmunoglobulina humana.

Según un aspecto de la invención, la localización de las CDRs y de los residuos estructurales se determinan mediante métodos descritos en Kabat, E. A., *et al* (1991) "Sequences of Proteins of Immunological Interest", Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242. Según otro aspecto de la invención, el anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo puede tener la siguiente estructura:

Secuencia Líder-FW1-CDR1-FW2-CDR2-FW3-CDR3

en la que las regiones estructurales FW1, FW2, FW3 y las CDRs CDR1, CDR2, CDR3 tienen las secuencias de aminoácido descritas en la Tabla 1.

Los anticuerpos humanizados descritos en la presente memoria pueden producirse mediante métodos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, una vez obtenidos los anticuerpos no humanos (p.ej., murinos), se pueden secuenciar las regiones variables, y se puede determinar la localización de las CDRs y los residuos estructurales. Kabat, E. A., *et al* (1991) "Sequences of Proteins of Immunological Interest", Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242. Chotia, C. *et al* (1987) J. Mol. Biol., 196: 901-917. El ADN que codifica las regiones variables de cadena ligera y pesada puede, opcionalmente, estar ligado a las correspondientes regiones constantes y a continuación subclonarse en un vector de expresión apropiado. Las moléculas de anticuerpo con injerto de CDR pueden producirse mediante anclaje de CDR o sustitución de CDR. Se pueden reemplazar una, dos o todas las CDRs de una cadena de inmunoglobulina. Por ejemplo, todas las CDRs de un anticuerpo particular pueden proceder de al menos una porción de un animal no humano (p.ej., ratón tal como las CDRs mostradas en la Tabla 1), o se pueden reemplazar solo algunas de las CDRs. Solo es necesario mantener las CDRs requeridas para la unión del anticuerpo a un antígeno de carbohidrato predeterminado (p.ej., Globo H). Morrison, S. L., 1985, Science, 229: 1202-1207. Oi *et al.*, 1986, BioTechniques, 4: 214. Patentes de los EE.UU. n° 5.585.089; 5.225.539; 5.693.761 y 5.693.762. EP 519596. Jones *et al.*, 1986, Nature, 321: 552-525. Verhoeyan *et al.*, 1988, Science, 239: 1534. Beidler *et al.*, 1988, J. Immunol., 141: 4053-4060.

También se describen en la presente memoria anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos, que comprende una o dos regiones variables como las descritas en la presente memoria, estando las otras regiones reemplazadas por secuencias procedentes de al menos una especie diferente, que incluye, aunque sin limitación, humano, conejos, ovejas, perros, gatos, vacas, caballos, cabras, cerdos, monos, simios, gorilas, chimpancés, patos, gansos, pollos, anfibios, reptiles y otros animales.

Un anticuerpo quimérico es una molécula en la que diferentes porciones se derivan de diferentes especies animales. Por ejemplo, un anticuerpo puede contener una región variable derivada de un mAb de ratón y una región constante de inmunoglobulina humana. Los anticuerpos quiméricos pueden producirse mediante técnicas de ADN

recombinantes. Morrison, *et al.*, Proc Natl Acad Sci, 81: 6851-6855 (1984). Por ejemplo, un gen que codifica una molécula de anticuerpo de ratón (o de otra especie) es digerida con enzimas de restricción para eliminar la región que codifica el Fc de ratón, y a continuación se sustituye la porción equivalente de un gen que codifica una región constante Fc humana en la molécula de ADN recombinante. Los anticuerpos quiméricos también pueden crearse mediante técnicas de ADN recombinante, donde se puede ligar ADN que codifica regiones V de ratón con ADN que codifica regiones constantes humanas. Better *et al.*, Science, 1988, 240: 1041-1043. Liu *et al.* PNAS, 1987 84: 3439-3443. Liu *et al.*, J. Immunol., 1987, 139: 3521-3526. Sun *et al.* PNAS, 1987, 84: 214-218. Nishimura *et al.*, Canc. Res., 1987, 47: 999-1005. Wood *et al.* Nature, 1985, 314: 446-449. Shaw *et al.*, J. Natl. Cancer Inst., 1988, 80: 1553-1559. Publicaciones de Patente Internacional nº WO1987002671 y WO 86/01533. Solicitudes de Patente Europea nº 184, 187; 171.496; 125.023; y 173.494. Patente de EE.UU. nº 4.816.567.

Los anticuerpos pueden ser de longitud completa o pueden comprender un fragmento (o fragmentos) del anticuerpo que tiene una porción de unión a antígeno, que incluye, aunque sin limitación, Fab, F(ab')₂, Fab', F(ab)'₂, Fv, Fv de cadena sencilla Fv (scFv), scFv bivalente (bi-scFv), scFv trivalente (tri-scFv), Fd, fragmento dAb (p.ej., Ward *et al.*, Nature, 341: 544-546 (1989)), una CDR aislada, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo de cadena sencilla, y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo. Los anticuerpos de cadena sencilla producidos uniendo fragmentos de anticuerpo con métodos recombinantes, o un ligando sintético, también son contemplados por la presente invención. Bird *et al.* Science, 1988, 242: 423-426. Huston *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1988, 85: 5879-5883.

Los anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos descritos en la presente memoria pueden ser mono-específicos, biespecíficos o multiespecíficos. Los anticuerpos multiespecíficos o biespecíficos o los fragmentos de los mismos pueden ser específicos para diferentes epítomos de un carbohidrato diana (p.ej., Globo H) o pueden contener dominios de unión a antígeno específicos para más de un carbohidrato diana (p.ej., dominios de unión a antígeno específicos para Globo H, SSEA-3 y SSEA-4). En una realización, un anticuerpo multiespecífico o una porción de unión a antígeno del mismo comprende al menos dos dominios variables diferentes, donde cada dominio variable es capaz de unirse específicamente a un antígeno de carbohidrato separado o un epítipo diferente del mismo antígeno de carbohidrato. Tutt *et al.*, 1991, J. Immunol. 147: 60-69. Kufer *et al.*, 2004, Trends Biotechnol. 22: 238-244. Los presentes anticuerpos pueden estar ligados o ser co-expresados con otras moléculas funcionales, p.ej., otro péptido o proteína. Por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento del mismo puede estar ligado funcionalmente (p.ej., mediante acoplamiento químico, fusión genética, asociación no covalente o de cualquier otro modo) a una o más entidades moleculares diferentes, tal como otro anticuerpo o fragmento de anticuerpo para producir un anticuerpo biespecífico o multiespecífico con una segunda especificidad de unión.

La presente invención contempla todos los isotipos de anticuerpo, que incluyen IgG (p.ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgA (IgA1, IgA2), IgD o IgE (se contemplan todas las clases y subclases en la presente invención). Los anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos pueden ser anticuerpos de mamífero (p.ej., ratón, humano) o porciones de unión a antígeno de los mismos. Las cadenas ligeras del anticuerpo pueden ser de tipo kappa o lambda.

Las regiones variables de los presentes anticuerpos o de las porciones de unión a antígeno de los mismos pueden proceder de una fuente humana o no humana. La estructura de los presentes anticuerpos, o de las porciones de unión a antígeno de los mismos, puede ser humana, humanizada, no humana (p.ej., una estructura de ratón modificada para reducir la antigenicidad en humanos), o puede ser una estructura sintética (p.ej., una secuencia de consenso).

En una realización, los presentes anticuerpos, o las porciones de unión a antígeno de los mismos, comprenden al menos una región variable de cadena pesada y/o al menos una región variable de cadena ligera.

Los presentes anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos se unen específicamente a Globo H con una constante de disociación (K_D) inferior a aproximadamente $10E-7$ M, inferior a aproximadamente $10E-8$ M, inferior a aproximadamente $10E-9$ M, inferior a aproximadamente $10E-10$ M, inferior a aproximadamente $10E-11$ M, o inferior a aproximadamente $10E-12$ M. En una realización, el anticuerpo o la porción de unión a anticuerpo del mismo tiene una constante de disociación (K_D) de $1 \sim 10 \times 10E-9$ o inferior. En otra realización, la K_D se determina mediante resonancia de plasmón superficial.

Los anticuerpos con una región de cadena pesada variable y una región de cadena ligera variable que son homólogas en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 81%, al menos aproximadamente 82%, al menos aproximadamente 83%, al menos aproximadamente 84%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 86%, al menos aproximadamente 87%, al menos aproximadamente 88%, al menos aproximadamente 89%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 91%, al menos aproximadamente 92%, al menos aproximadamente 93%, al menos aproximadamente 94%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99% o aproximadamente 100% a la región de cadena pesada variable y a la región de cadena ligera del anticuerpo producido por el clon 2C2, y también se pueden unir a un antígeno de carbohidrato (p.ej., Globo H). La homología se puede dar tanto a nivel de secuencia de aminoácidos como a nivel de secuencia de nucleótidos.

En algunas realizaciones, los anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos incluyen, por ejemplo, las cadenas pesadas variables y/o las cadenas ligeras variables de los anticuerpos producidos por el hibridoma 2C2, el hibridoma 3D7 y el hibridoma 7A11, que se muestran en la Tabla 1.

- 5 En realizaciones relacionadas, los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos incluyen, por ejemplo, las CDRs de las cadenas pesadas variables y/o las CDRs de las cadenas ligeras variables de los anticuerpos producidos a partir del hibridoma 2C2, el hibridoma 3D7 y el hibridoma 7A11. Las CDRs y las estructuras de las cadenas pesadas variables y de las cadenas ligeras variables de estos clones de hibridoma se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: SEQ ID NO. 1 – 90

Clones de hibridoma	Región de cadena	Secuencia	SEQ ID No.
2C2	Región Variable de Cadena Pesada (Vh)	Secuencia de ácido nucleico TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTCTTTCTCT GGATTTTCACTGTACACTTTTGATATGG GTGTAGGCTGGATTTCGTCAGCCTTCAGG GAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACAT TTGGTGGGATGATGATAAGTACTATAAC CCAGCCCTGAAGAGTCGGCTCACAGTCT CCAAGGATACCTCCAAAAACCAGGTCTT CCTCAAGATCCCCAATGTGGACACTGCA GATAGTGCCACATACTACTGTGCTCGAG TAAGGGGCCTCCATGATTATTACTACTG GTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTG GTCAGTGTCTCT	1
2C2	Región Variable de Cadena Ligera (VL)	Secuencia de ácido nucleico GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAATG ACTTGCAGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTT ACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAG GATCCTCCCCCAAACCTGGATTTATGC CACATCCAACCTGGCGTCTGGAGTCCCT GCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGA CCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGAGT GGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTTT TGCCAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTC ACGTTCCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAA ATAAGA	2
2C2	Región Variable de Cadena Pesada (Vh)	Secuencia de aminoácidos SGPG ILQPSQTL SL TCSFSGFSLY TFDMGVGWIR QPSGKGLEWL AHIWWDDDKY YNPALKSRLT VSKDTSKNQV FLKIPNVDTA DSATYYCARV RGLHDYYYWF AYWGQGLVT VS	3
2C2	Región Variable de Cadena Ligera (VL)	Secuencia de aminoácidos ASPGEKVT MTCRASSSVS YMHWYQQKPG SSPKPWIYAT SNLASGVPAR FSGSGSGTSY SLTISRVEAE DAATYFCQW SRNPFTFGSG TKLEIR	4
2C2	CDR1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos YTFDMGVG	5
2C2	CDR2 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos HIWWDDDKYYPALKS	6
2C2	CDR3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos VRGLHDYYYWFAY	7
2C2	CDR1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos RASSSVSYM	8

2C2	CDR2 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos ATSNLAS	9
2C2	CDR3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos QQWSRNPFT	10
2C2	Estructura 2 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos WIRQPSGKGLEWLA	11
2C2	Estructura 2 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos WYQQKPGSSPKPWIY	12
3D7	Región Variable de Cadena Pesada (Vh)	Secuencia de aminoácidos SGPGILQPSQTLSTCSFSGFSL YTFDMGV GWIRQPSGKGLEWLAHIWWDDDKYYNP ALKSRLTVSKDTSKNQVFLKIPNVDADS ATYYCARVRGLHDYYYWFAYWGQGT L VTVS	13
3D7	Región Variable de Cadena Ligera (VL)	Secuencia de aminoácidos ASPGEKVTMTCRASSSVSYMHYQQKPG SSPKPWIY ATSNLASGVP ARFSGSGSGTSY SLTISRVEAEDAATYFCQQWSRNPFTFGS GTKLEIR	14
3D7	CDR1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos YTFDMGVG	15
3D7	CDR2 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos HIWWDDDKYYNPALKS	16
3D7	CDR3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos VRGLHDYYYWFAY	17
3D7	CDR1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos RASSSVSYMH	18
3D7	CDR2 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos ATSNLAS	19
3D7	CDR3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos QQWSRNPFT	20
7A11	Región Variable de Cadena Pesada (Vh)	Secuencia de aminoácidos SGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLYTFDMGV GWIRQPSGKGLEWLAQIWWDDDKYYNP GLKSRLTISKDTSKNQVFLKIPNVDADSA TYTCARIRGLRDYYYWFAYWGQGT L V VS	21
7A11	Región Variable de Cadena Ligera (VL)	Secuencia de aminoácidos ASPGEKVTMTCRASSSVSYMHYQQKPG SSPKPWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTSY SLTISRVEAEDAATYFCQQWSRNPFTFGS GTKLEIR	22
7A11	CDR1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos YTFDMGVG	23
7A11	CDR2 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos QIWWDDDKYYNPGLKS	24
7A11	CDR3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos IRGLRDYYYWFAY	25
7A11	CDR1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos RASSSVSYMH	26
7A11	CDR2 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos ATSNLAS	27

7A11	CDR3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos QQWSRNPFT	28
2C2	CDR1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos TACACTTTTGATATGGGTGTAGGC	45
2C2	CDR2 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos CACATTTGGTGGGATGATGATAAGTACTATA ACCCAGCCCTGAAGAGT	46
2C2	CDR3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos GTAAGGGGCCTCCATGATTATTACTACTG GTTTTGCTTAC	47
2C2	CDR1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos AGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTTACATGCAC	48
2C2	CDR2 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos GCCACATCCAACCTGGCGTCT	49
2C2	CDR3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos CAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTACAG	50
3D7	Región Variable de Cadena Pesada (Vh)	Secuencia de aminoácidos TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCT GGATTTTCACTGTACACTTTTGATATGGG TGTAGGCTGGATTTCGTCAGCCTTCAGGG AAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATTT GGTGGGATGATGATAAGTACTATAACCC AGCCCTGAAGAGTCGGCTCACAGTCTCC AAGGATACCTCCAAAAACCAGGTCTTCC TCAAGATCCCAATGTGGACACTGCAGA TAGTGCCACATACTACTGTGCTCGAGTA AGGGGCCTCCATGATTATTACTACTGGTT TGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTC ACTGTCTCT	51
3D7	Región Variable de Cadena Ligera (VL)	Secuencia de aminoácidos GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAATG ACTTGCAGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTT ACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAG GATCCTCCCCCAAACCCTGGATTTATGCC ACATCCAACCTGGCGTCTGGAGTCCCTG CTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGAC CTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGAGTG GAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTTCT GCCAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTAC GTTGCGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATA AGA	52
3D7	CDR1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos TACACTTTTGATATGGGTGTAGGC	53
3D7	CDR2 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos CACATTTGGTGGGATGATGATAAGTACTA TAACCCAGCCCTGAAGAGT	54
3D7	CDR3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos GTAAGGGGCCTCCATGATTATTACTACTG GTTTGCTTAC	55
3D7	CDR1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos AGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTTACATGC AC	56
3D7	CDR2 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos GCCACATCCAACCTGGCGTCT	57

3D7	CDR3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos CAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTACAG	58
7A11	Región Variable de Cadena Pesada (Vh)	Secuencia de aminoácidos TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTCTTTCTCT GGATTTTCACTGTACACTTTTGATATGGG TGTAGGCTGGATTCGTCAGCCTTCAGGG AAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACAAATTT GGTGGGATGATGATAAGTACTATAACCC AGGCCTGAAGAGTCGGCTCACAATCTCC AAGGATACCTCCAAAACCAGGTATTCC TCAAGATCCCCAATGTGGACACTGCAGA TAGTGCCACATACTACTGTGCTCGAATAA GGGGCCTCCGTGATTATTACTACTGGTTT GCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCA CTGTCTCT	59
7A11	Región Variable de Cadena Ligera (VL)	Secuencia de aminoácidos GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAATG ACTTGCAGGGCCAGCTCAAGTGTAAGTT ACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAG GATCCTCCCCCAAACCCTGGATTTATGCC ACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTG CTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGAC CTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGAGTG GAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTTCT GCCAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTAC GTTCCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATA AGA	60
7A11	CDR1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos TACACTTTTGATATGGGTGTAGGC	61
7A11	CDR2 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos CAAATTTGGTGGGATGATGATAAGTACTA TAACCCAGGCCTGAAGAGT	62
7A11	CDR3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos ATAAGGGGCCTCCGTGATTATTACTACTG GTTTGCTTAC	63
7A11	CDR1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos AGGGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGC AC	64
7A11	CDR2 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos GCCACATCCAACCTGGCTTCT	65
7A11	CDR3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos CAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTACAG	66
2C2	Estructura 1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos SGPGILQPSQTLTLCSFSGFSL	83
2C2	Estructura 1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos ASPGEKVTMTC	84
2C2	Estructura 3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos RLTVSKDTSKNQVFLKIPNVDTA DSATYYCAR	85
2C2	Estructura 3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos GVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAE DAATYFC	86
2C2	Estructura 1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos de anticuerpo humanizado SGPTLVKPTQTLTLTC TFSGFSL	87

2C2	Estructura 1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos de anticuerpo humanizado LSPGERATLSC	88
2C2	Estructura 3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos de anticuerpo humanizado RLTISKDTSKNQVVLTMNMDPVDATYY CAR	89
2C2	Estructura 3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos de anticuerpo humanizado GVPSRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDATYY C	90

Además se describe un ácido nucleico que codifica el presente anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a un antígeno de carbohidrato. En una realización, el antígeno de carbohidrato es Globo H. En otra realización, el antígeno de carbohidrato es SSEA-3. En otra realización adicional, el antígeno de carbohidrato es SSEA-4. El ácido nucleico se puede expresar en una célula para producir el presente anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo.

En determinadas realizaciones, los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos incluyen una región de cadena pesada variable que comprende una secuencia de aminoácidos que es homóloga en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 81%, al menos aproximadamente 82%, al menos aproximadamente 83%, al menos aproximadamente 84%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 86%, al menos aproximadamente 87%, al menos aproximadamente 88%, al menos aproximadamente 89%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 91%, al menos aproximadamente 92%, al menos aproximadamente 93%, al menos aproximadamente 94%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99% o aproximadamente 100%, a cualquiera de las siguientes:

- a) SEQ ID NO: 3 (Hibridoma 2C2);
- b) SEQ ID NO: 13 (Hibridoma 3D7); o
- c) SEQ ID NO: 21 (Hibridoma 7A11)

En determinados aspectos, los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos incluyen una región de cadena ligera variable que comprende una secuencia de aminoácidos que es homóloga en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 81%, al menos aproximadamente 82%, al menos aproximadamente 83%, al menos aproximadamente 84%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 86%, al menos aproximadamente 87%, al menos aproximadamente 88%, al menos aproximadamente 89%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 91%, al menos aproximadamente 92%, al menos aproximadamente 93%, al menos aproximadamente 94%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99% o aproximadamente 100%, a cualquiera de las siguientes:

- a) SEQ ID NO: 4 (Hibridoma 2C2);
- b) SEQ ID NO: 14 (Hibridoma 3D7); o
- c) SEQ ID NO: 22 (Hibridoma 7A11)

En determinados aspectos, una región de cadena pesada variable de los anticuerpos o de las porciones de unión a antígeno de los mismos comprende una secuencia de aminoácidos que es homóloga en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 81%, al menos aproximadamente 82%, al menos aproximadamente 83%, al menos aproximadamente 84%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 86%, al menos aproximadamente 87%, al menos aproximadamente 88%, al menos aproximadamente 89%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 91%, al menos aproximadamente 92%, al menos aproximadamente 93%, al menos aproximadamente 94%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99% o aproximadamente 100%, a la SEQ ID NO: 3, y una región de cadena ligera variable de los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos que comprende una secuencia de aminoácidos que es homóloga en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 81%, al menos aproximadamente 82%, al menos aproximadamente 83%, al menos aproximadamente 84%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 86%, al menos aproximadamente 87%, al menos aproximadamente 88%, al menos aproximadamente 89%, al menos aproximadamente 90%, al menos

aproximadamente 91%, al menos aproximadamente 92%, al menos aproximadamente 93%, al menos aproximadamente 94%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99% o aproximadamente 100%, a la SEQ ID NO: 4.

- 5 En determinados aspectos, una región de cadena pesada variable de los anticuerpos o de las porciones de unión a antígeno de los mismos comprende una secuencia de aminoácidos que es homóloga en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 81%, al menos aproximadamente 82%, al menos aproximadamente 83%, al menos aproximadamente 84%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 86%, al menos aproximadamente 87%, al menos aproximadamente 88%, al menos aproximadamente 89%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 91%, al menos aproximadamente 92%, al menos aproximadamente 93%, al menos aproximadamente 94%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99% o aproximadamente 100%, a la SEQ ID NO: 13, y una región de cadena ligera variable de los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos comprende una secuencia de aminoácidos que es homóloga en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 81%, al menos aproximadamente 82%, al menos aproximadamente 83%, al menos aproximadamente 84%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 86%, al menos aproximadamente 87%, al menos aproximadamente 88%, al menos aproximadamente 89%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 91%, al menos aproximadamente 92%, al menos aproximadamente 93%, al menos aproximadamente 94%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99% o aproximadamente 100%, a la SEQ ID NO: 14.

- 25 En determinados aspectos, una región de cadena pesada variable de los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos comprende una secuencia de aminoácidos que es homóloga en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 81%, al menos aproximadamente 82%, al menos aproximadamente 83%, al menos aproximadamente 84%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 86%, al menos aproximadamente 87%, al menos aproximadamente 88%, al menos aproximadamente 89%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 91%, al menos aproximadamente 92%, al menos aproximadamente 93%, al menos aproximadamente 94%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99% o aproximadamente 100%, a la SEQ ID NO: 21, y una región de cadena ligera variable de los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos comprende una secuencia de aminoácidos que es homóloga en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 81%, al menos aproximadamente 82%, al menos aproximadamente 83%, al menos aproximadamente 84%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 86%, al menos aproximadamente 87%, al menos aproximadamente 88%, al menos aproximadamente 89%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 91%, al menos aproximadamente 92%, al menos aproximadamente 93%, al menos aproximadamente 94%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99% o aproximadamente 100%, a la SEQ ID NO: 22.

- 45 En determinados aspectos, una región de cadena pesada variable de los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos puede comprender uno, dos, tres o más CDRs, que comprende secuencias de aminoácido que son homólogas en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 99%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 81%, aproximadamente 82%, aproximadamente 83%, aproximadamente 84%, aproximadamente 85%, aproximadamente 86%, aproximadamente 87%, aproximadamente 88%, aproximadamente 89%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o aproximadamente 100% a cualquiera de las siguientes:

- a) CDRs de la región de cadena pesada variable de un anticuerpo producido por el hibridoma 2C2 (SEQ ID NOs: 5, 6 y 7);
- 55 b) CDRs de la región de cadena pesada variable de un anticuerpo producido por el hibridoma 3D7 (SEQ ID NOs: 15, 16 y 17); o
- c) CDRs de la región de cadena pesada variable de un anticuerpo producido por el hibridoma 7A11 (SEQ ID NOs: 23, 24 y 25)
- d) .

- 60 En determinados aspectos, una región de cadena ligera variable de los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos puede comprender una, dos, tres o más CDRs, que comprende secuencias de aminoácido que son

homólogas en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 99%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 81%, aproximadamente 82%, aproximadamente 83%, aproximadamente 84%, aproximadamente 85%, aproximadamente 86%, aproximadamente 87%, aproximadamente 88%, aproximadamente 89%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o aproximadamente 100% a cualquiera de las siguientes:

- a) CDRs de la región de cadena ligera variable de un anticuerpo producido por el hibridoma 2C2 (SEQ ID NOs: 8, 9 y 10);
- b) CDRs de la región de cadena ligera variable de un anticuerpo producido por el hibridoma 3D7 (SEQ ID NOs: 18, 19 y 20); o
- c) CDRs de la región de cadena ligera variable de un anticuerpo producido por el hibridoma 7A11 (SEQ ID NOs: 26, 27 y 28)

Una región de cadena pesada variable de los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos puede comprender una, dos, tres o más CDRs, que comprende las secuencias de aminoácido que son homólogas en al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 99%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o aproximadamente 100% a las CDRs de la región de cadena pesada variable de un anticuerpo producido por el hibridoma 2C2 (SEQ ID NOs: 5, 6, 7) o las CDRs de la región de cadena pesada variable de un anticuerpo producido por el hibridoma 3D7 (SEQ ID NOs: 15, 16 y 17), y una región de cadena ligera variable de los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno del mismo puede comprender una, dos, tres o más CDRs que comprenden secuencias de aminoácido que son homólogas en al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 99%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o aproximadamente 100% a las CDRs de la región de cadena ligera variable de un anticuerpo producido por el hibridoma 2C2 (SEQ ID NOs: 8, 9, 10) o las CDRs de la región de cadena ligera variable de un anticuerpo producido por el hibridoma 3D7 (SEQ ID NOs: 18, 19 y 20).

En un aspecto, los anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos comprenden además una estructura que es homóloga en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 99%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 81%, aproximadamente 82%, aproximadamente 83%, aproximadamente 84%, aproximadamente 85%, aproximadamente 86%, aproximadamente 87%, aproximadamente 88%, aproximadamente 89%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o aproximadamente 100% a la SEQ ID NO: 83 (Estructura 1 de Cadena Pesada del anticuerpo 2C2) o a la SEQ ID NO: 87 (Estructura 1 de Cadena Pesada del anticuerpo 2C2 humanizado, véase la Tabla 1), donde la estructura está entre una secuencia líder y la CDR1 de una región de cadena pesada variable del anticuerpo producido por el hibridoma 2C2. En otra realización, los anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos comprenden una estructura que es homóloga en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 99%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 81%, aproximadamente 82%, aproximadamente 83%, aproximadamente 84%, aproximadamente 85%, aproximadamente 86%, aproximadamente 87%, aproximadamente 88%, aproximadamente 89%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o aproximadamente 100% a la SEQ ID NO: 84 (Estructura 1 de Cadena Ligera del anticuerpo 2C2) o a la SEQ ID NO: 88 (Estructura 1 de Cadena Ligera del anticuerpo 2C2 humanizado, véase la Tabla 1) y dicha estructura está entre una secuencia líder y la CDR1 de la región de cadena ligera variable del anticuerpo producido por el hibridoma 2C2.

En un aspecto, los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos comprenden además una estructura entre CDR1 y CDR2 de la región de cadena pesada variable del anticuerpo producido por el hibridoma 2C2, donde la estructura es homóloga en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 99%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 81%, aproximadamente 82%, aproximadamente 83%, aproximadamente 84%, aproximadamente 85%, aproximadamente 86%, aproximadamente 87%, aproximadamente 88%, aproximadamente 89%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o aproximadamente 100% a la SEQ ID NO: 11 (Estructura 2 de

Cadena Pesada de la Tabla 1). En un ejemplo de realización, la estructura entre CDR1 y CDR2 de una región de cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácido homóloga entre aproximadamente un 80% y aproximadamente el 100% a la SEQ ID NO: 11, contiene glicina en la posición 9. La posición del aminoácido de la SEQ ID NO: 11 se ilustra a continuación:

Aminoácido	W*	I	R	Q	P	S	G	K	G	L	E	W	L	A**
Posición nº	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

* El aminoácido de la posición 1 de FW2 (W) es el residuo adyacente a CDR1.

** El aminoácido de la posición 14 de FW2 (A) es el residuo adyacente a CDR2.

En otro aspecto, los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos comprenden además una estructura entre CDR1 y CDR2 de la región de cadena ligera variable de un anticuerpo producido por el hibridoma 2C2, donde la estructura es homóloga en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 99%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 81%, aproximadamente 82%, aproximadamente 83%, aproximadamente 84%, aproximadamente 85%, aproximadamente 86%, aproximadamente 87%, aproximadamente 88%, aproximadamente 89%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o aproximadamente 100% a la SEQ ID NO: 12 (Estructura 2 de Cadena Ligera de la Tabla 1). En un ejemplo de realización, la estructura entre CDR1 y CDR2 de una región de cadena ligera variable del anticuerpo producido por el hibridoma 2C2 contiene prolina en la posición 12. En otro ejemplo de realización, la estructura entre CDR1 y CDR2 de una región de cadena ligera variable del anticuerpo producido por el hibridoma 2C2 contiene triptófano en la posición 13. En otro ejemplo adicional de realización, la estructura entre CDR1 y CDR2 de una región de cadena ligera variable del anticuerpo producido por el hibridoma 2C2 contiene prolina en la posición 12 y triptófano en la posición 13. La posición del aminoácido de la SEQ ID NO: 12 se ilustra a continuación:

Aminoácido	W*	Y	Q	Q	K	P	G	S	S	P	K	P	W	I	Y**
Posición nº	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15

* El aminoácido de la posición 1 de FW2 (W) es el residuo adyacente a CDR1.

** El aminoácido de la posición 15 de FW2 (Y) es el residuo adyacente a CDR2.

En otro aspecto, los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos comprenden además una estructura que es homóloga en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 99%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 81%, aproximadamente 82%, aproximadamente 83%, aproximadamente 84%, aproximadamente 85%, aproximadamente 86%, aproximadamente 87%, aproximadamente 88%, aproximadamente 89%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o aproximadamente 100% a la SEQ ID NO: 85 (Estructura 3 de Cadena Pesada) o a la SEQ ID NO: 89 (Estructura 3 de Cadena Pesada de anticuerpo humanizado, véase la Tabla 1), donde la estructura está entre CDR2 y CDR3 de una región de cadena pesada variable del anticuerpo producido el hibridoma 2C2. En otra realización, los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos comprenden además una estructura que es homóloga en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 99%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 81%, aproximadamente 82%, aproximadamente 83%, aproximadamente 84%, aproximadamente 85%, aproximadamente 86%, aproximadamente 87%, aproximadamente 88%, aproximadamente 89%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o aproximadamente 100% a la SEQ ID NO: 86 (Estructura 3 de Cadena Ligera) o a la SEQ ID NO: 90 (Estructura 3 de Cadena Ligera de anticuerpo humanizado, véase la Tabla 1) y dicha estructura está entre CDR2 y CDR3 de una región de cadena ligera variable del anticuerpo producido por el hibridoma 2C2.

En determinados aspectos, una región de cadena pesada variable de los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos puede comprender una, dos, tres o más CDRs que comprenden secuencias de aminoácido que son homólogas en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 99%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 81%, aproximadamente 82%, aproximadamente 83%, aproximadamente 84%, aproximadamente 85%, aproximadamente 86%, aproximadamente 87%, aproximadamente 88%, aproximadamente 89%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente

93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o aproximadamente 100% a CDRs de la región de cadena pesada variable del anticuerpo producido por el hibridoma 7A11 (SEQ ID NOs: 23, 24 y 25), y una región de cadena ligera variable de los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos puede comprender una, dos, tres o más CDRs que comprenden secuencias de aminoácido que son homólogas en al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 99%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 81%, aproximadamente 82%, aproximadamente 83%, aproximadamente 84%, aproximadamente 85%, aproximadamente 86%, aproximadamente 87%, aproximadamente 88%, aproximadamente 89%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o aproximadamente 100% a CDRs de una región de cadena ligera variable del anticuerpo producido por el hibridoma 7A11 (SEQ ID NOs: 26, 27 y 28).

En determinados aspectos, las regiones variables correspondientes a las regiones variables de la Tabla 1 presentan variaciones de secuencia. Por ejemplo, una región variable de cadena pesada, en la que 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 residuos, o menos del 40%, menos de aproximadamente el 30%, aproximadamente el 25%, aproximadamente el 20%, aproximadamente el 15%, aproximadamente el 10%, aproximadamente el 9%, aproximadamente el 8%, aproximadamente el 7%, aproximadamente el 6%, aproximadamente el 5%, aproximadamente el 4%, aproximadamente el 3%, aproximadamente el 2% o aproximadamente el 1% de los residuos de aminoácido están sustituidos o eliminados, pero mantiene esencialmente las mismas propiedades inmunológicas, que incluyen, aunque sin limitación, la unión a un antígeno de carbohidrato.

En determinados aspectos, las CDRs correspondientes a las CDRs de la Tabla 1 presentan variaciones de secuencia. Por ejemplo, puede haber presentes CDRs, en las que 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 residuos, o menos del 20%, menos del 30% o menos de aproximadamente el 40% de los residuos totales de la CDR, están sustituidos o eliminados, en un anticuerpo (o porción de unión a antígeno del mismo) que se une a un antígeno de carbohidrato.

Los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos pueden ser péptidos. Dichos péptidos pueden incluir variantes, análogos, ortólogos, homólogos y derivados de péptidos, que exhiben una actividad biológica, p.ej., la unión a un antígeno de carbohidrato. Los péptidos pueden contener uno o más análogos de un aminoácido (que incluye, por ejemplo, aminoácidos no naturales, aminoácidos que solo existen de forma natural en un sistema biológico no relacionado, aminoácidos modificados de sistemas de mamífero, etc.), péptidos con enlaces sustituidos, así como otras modificaciones conocidas en la técnica.

También se describen anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos en los que se han sustituido, eliminado o añadido aminoácidos específicos. En un ejemplo de realización, dichas alteraciones no tienen un efecto sustancial sobre las propiedades biológicas del péptido, tal como la afinidad de unión. En otro ejemplo de realización, los anticuerpos pueden presentar sustituciones de aminoácido en la región de estructura, tal como para mejorar la afinidad de unión del anticuerpo al antígeno. En otro ejemplo adicional de realización, se puede reemplazar un número pequeño, seleccionado, de residuos estructurales aceptores por los correspondientes aminoácidos donantes. La estructura donante puede ser una secuencia estructural de anticuerpo humano de línea germinal o maduro, o una secuencia de consenso. Una guía sobre cómo realizar sustituciones de aminoácidos fenotípicamente silenciosas puede encontrarse en Bowie *et al.*, Science, 247: 1306-1310 (1990). Cunningham *et al.*, Science, 244: 1081-1085 (1989). Ausubel (ed.), "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley and Sons, Inc. (1994). T. Maniatis, E. F. Fritsch y J. Sambrook, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989). Pearson, Methods Mol. Biol. 243: 307-31 (1994). Gonnet *et al.*, Science 256: 1443-45 (1992).

El anticuerpo, o la porción de unión a antígeno del mismo, puede derivatizarse o unirse a otra molécula funcional. Por ejemplo, un anticuerpo puede ligarse funcionalmente (mediante acoplamiento químico, fusión genética, interacción no covalente, etc.) a una o más entidades moleculares distintas, tal como otro anticuerpo, un agente detectable, un agente citotóxico, un agente farmacéutico, una proteína o péptido que puede mediar en la asociación con otra molécula (tal como una región de núcleo de estreptavidina o una cola de polihistidina), ligandos de aminoácido, secuencias señal, vehículos inmunogénicos, o ligandos útiles en la purificación de proteínas, tal como glutatión-S-transferasa, cola de histidina, y proteína A de estafilococo. Un tipo de proteína derivatizada se produce por reticulación de dos o más proteínas (del mismo tipo o de tipos diferentes). Los reticulantes adecuados incluyen aquellos que son heterobifuncionales, que tienen grupos reactivos distintos separados por un espaciador apropiado (p.ej., éster de *m*-maleimidobenzil-N-hidroxisuccinimida) o homobifuncional (p.ej., disuccinimidil suberato). Dichos ligandos están disponibles en Pierce Chemical Company, Rockford, Ill. Los agentes detectables útiles con los que se puede derivatizar (o marcar) una proteína, incluyen compuestos fluorescentes, diversas enzimas, grupos protésicos, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes, y materiales radioactivos. Los ejemplos no limitativos de agentes detectables fluorescentes incluyen fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina y ficoeritrina. Una proteína o anticuerpo también se puede derivatizar con enzimas detectables, tal como fosfatasa alcalina, peroxidasa de rábano, beta-galactosidasa, acetilcolinesterasa, glucosa oxidasa y similares. También se puede derivatizar una proteína con un grupo protésico (p.ej., estreptavidina/biotina y avidina/biotina).

También se describen ácidos nucleicos que codifican una variante funcionalmente activa del presente anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo. Dichas moléculas de ácido nucleico pueden hibridarse con un ácido nucleico que codifica cualquiera de los presentes anticuerpos, porciones de unión a antígeno de los mismos, en condiciones de severidad media, severidad alta, o severidad muy alta. Una guía para llevar a cabo las reacciones de hibridación se puede encontrar en "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley & Sons, N.Y. 6.3.1-6.3.6, 1989. Las condiciones de hibridación específicas referidas en la presente memoria son las siguientes: 1) condiciones de hibridación de severidad media: 6 X SSC a aproximadamente 45°C, seguido de uno o más lavados en 0,2 X SSC, SDS al 0,1% a 60°C; 2) condiciones de hibridación de severidad alta: 6 X SSC a aproximadamente 45°C, seguido de uno o más lavados en 0,2 X SSC, SDS al 0,1% a 65°C; y 3) condiciones de hibridación de severidad muy alta: fosfato sódico 0,5 M, SDS al 7% a 65°C, seguido de uno o más lavados en 0,2 X SSC, SDS al 0,1% a 65°C.

Un ácido nucleico que codifica el presente anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo puede introducirse en un vector de expresión que puede expresarse en un sistema de expresión adecuado, seguido de aislamiento o purificación del anticuerpo expresado, o de la porción de unión a antígeno del mismo. Opcionalmente, un ácido nucleico que codifica el presente anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo puede ser traducido en un sistema de traducción sin células. Patente de EE.UU. nº 4.816.567. Queen *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA, 86: 10029-10033 (1989).

Los presentes anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos pueden ser producidos mediante células hospedantes transformadas con ADN que codifica cadenas ligeras y pesadas (o porciones de las mismas) de un anticuerpo deseado. Los anticuerpos pueden aislarse y purificarse a partir de dichos sobrenadantes de cultivo y/o de células usando técnicas estándar. Por ejemplo, se puede transformar una célula hospedante con ADN que codifica la cadena ligera, la cadena pesada, o ambos, de un anticuerpo. También se puede usar tecnología de ADN recombinante para eliminar la totalidad o parte del ADN que codifica cadenas ligeras y pesadas, o ambas, que no es necesario para la unión, p.ej., de la región constante.

Los presentes ácidos nucleicos se pueden expresar en diversas células adecuadas, que incluyen células procarióticas y células eucarióticas, p.ej., células bacterianas, (p.ej., *E. coli*), células de levadura, células vegetales, células de insecto y células de mamífero. En la técnica se conoce una serie de líneas de células de mamífero e incluyen líneas celulares inmortalizadas disponibles en la "American Type Culture Collection" (ATCC). Los ejemplos no limitativos de las células incluyen todas las líneas celulares de origen mamífero o de características tipo mamífero, que incluyen, aunque sin limitación, células originales, derivados y/o variantes modificadas de células de riñón de mono (COS, p.ej., COS-1, COS-7), HEK293, riñón de hámster bebé (BHK, p.ej., BHK21), ovario de hámster chino (CHO), NS0, PerC6, BSC-1, células de carcinoma hepatocelular humano (p.ej., Hep G2), SP2/0, HeLa, riñón bovino Madin-Darby (MDBK), células de mieloma y linfoma. Las variantes modificadas incluyen, p.ej., derivados de perfil de glicano modificado y/o derivados de sitio de integración sito-específicos.

Se describen además células que comprenden los ácidos nucleicos descritos en la presente memoria. Las células pueden ser un hibridoma o un transfectante, tal como el hibridoma designado como 2C2.

Alternativamente, el presente anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo puede sintetizarse mediante procedimientos en fase sólida bien conocidos en la técnica. "Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach" de E. Atherton y R. C. Sheppard, publicado por IRL en Oxford University Press (1989). "Methods in Molecular Biology", Vol. 35: "Peptide Synthesis Protocols" (ed. M. W. Pennington y B. M. Dunn), capítulo 7. "Solid Phase Peptide Synthesis", 2ª Ed., Pierce Chemical Co., Rockford, IL (1984). G. Barany y R. B. Merrifield, "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology", editores E. Gross y J. Meienhofer, Vol. 1 y Vol. 2, Academic Press, Nueva York, (1980), pp. 3-254. M. Bodansky, "Principles of Peptide Synthesis", Springer-Verlag, Berlín (1984).

La presente descripción proporciona métodos para fabricar un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a un antígeno de carbohidrato, (p.ej., Globo H). Por ejemplo, un animal no humano es inmunizado con una composición que incluye un antígeno de carbohidrato (p.ej., Globo H), y a continuación se aísla del animal un anticuerpo específico. El método puede incluir además la evaluación de la unión del anticuerpo a un antígeno de carbohidrato.

Se puede usar cualquiera de una variedad de antígenos de carbohidrato, particularmente Globo H, según la presente descripción. Los ejemplos de antígenos de carbohidrato incluyen, aunque sin limitación, antígenos de Globo tales como Globo H, antígeno 3 embrionario específico de estadio (SSEA-3) (también denominado Gb5), antígeno 4 embrionario específico de estadio (SSEA-4), Gb-4 y Gb-3, antígenos de Lewis tales como sLe^x, Le^x, sLe^a, Le^a y Le^y, antígenos de polisacárido tales como ácido polisialílico (PSA), sTn(c) y Tn(c), antígeno de Thomsen-Friedenreich (TF(C)), el gangliosido tal como GD1, GD2, GD3, Fucosil GM1, GM1, GM2, GM3, GD1α y GM2, antígeno de sulfatido tal como 6Gal-HSO3-SiaLex y 6GluNAc-HSO3-SiaLex. Otros antígenos de carbohidrato incluyen, aunque sin limitación: α-Galactosa, α-Man-6-fosfato, α-L-Rhamnosa, α-GalNAc(Tn), α-NeuAc-OCH2C6H4-p-NHCOOCH2, Fuca1-2Galβ1-4GalNAcβ (H tipos 3), NeuAca2-8NeuAca, (NeuAca2-8)2 ácido polisialílico, NeuAca2-6Galb, NeuAcb2-6Gala(STn), Gala1-3Galb1-4GlaNAcb (NeuAca2-8)3, GalNAcαa-3(Fuca1-2)Galβ (grupo sanguíneo A), Gala1-3(Fuca1-2)Galβ (grupo sanguíneo B), 6Gal-HSO3-SiaLex, 6GluNAc-HSO3-SiaLex y N-glicanos α2-6 sialilados dantenarios.

En una realización, el anticuerpo anti-Globo H o la porción de unión al mismo pueden reaccionar de forma cruzada con otros antígenos de carbohidrato con alta selectividad, como se ilustra en la Fig. 3A y la Fig. 3B. Los ejemplos no limitativos de los antígenos de carbohidrato son: SSEA-3, SSEA-4, antígenos de Lewis.

En la presente memoria se describe un método para fabricar un hibridoma que expresa un anticuerpo que se une específicamente a un antígeno de carbohidrato (p.ej., Globo H). El método contiene las siguientes etapas: inmunizar un animal con una composición que incluye antígeno de carbohidrato (p.ej., Globo H); aislar esplenocitos del animal; generar hibridomas a partir de los esplenocitos; y seleccionar un hibridoma que produce un anticuerpo que se une específicamente a Globo H. Kohler y Milstein, *Nature*, 256: 495, 1975. Harlow, E. y Lane, D. "Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1988.

En una realización, el antígeno de carbohidrato se usa para inmunizar ratones subcutáneamente. Se pueden administrar, o no, una o dos inyecciones. Se pueden monitorizar los títulos de los anticuerpos en el plasma, p.ej., mediante ELISA (ensayo inmunosorbente ligado a enzima) o citometría de flujo. Los ratones con título suficiente de anticuerpos anti-antígeno de carbohidrato se usan para las fusiones. Los ratones pueden haber sido inyectados, o no, con el antígeno 3 días antes de su sacrificio y extracción del bazo. Se aíslan los esplenocitos de ratón y se fusionan con PEG a una línea celular de mieloma de ratón. Los hibridomas resultantes se criban entonces en función de la producción de anticuerpos específicos de antígeno. Las células se llevan a placa, y a continuación se incuban en medio selectivo. Se criban entonces los sobrenadantes de pocillos individuales mediante ELISA para determinar la presencia de anticuerpos monoclonales anti-antígeno de carbohidrato. Se vuelven a llevar a placa los hibridomas que secretan anticuerpo, se vuelven a cribar, y si siguen siendo positivos para anticuerpos anti-antígeno de carbohidrato, pueden ser subclonados mediante dilución limitativa.

Se pueden usar adyuvante para aumentar la inmunogenicidad de uno o más de los antígenos de carbohidrato. Los ejemplos no limitativos de adyuvantes incluyen fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio, MF59 (4,3% p/v de escualeno, 0,5% p/v de polisorbato 80 (Tween 80), 0,5% p/v de trioleato de sorbitán (Span 85)), ácido nucleico que contiene CpG, QS21 (adyuvante de saponina), α -galactosil-ceramides o análogos sintéticos de los mismos (p.ej., C34, véase el documento US 8.268.969), MPL (monofosforil lípido A), 3DMPL (MPL 3-O-deacilado), extractos de Aquilla, ISCOMS (véase, p.ej., Sjolander *et al.* (1998) *J. Leukocyte Biol.* 64: 713; los documentos WO90/03184; WO96/11711; WO 00/48630; WO98/36772; WO00/41720; WO06/134423 y WO07/026190), mutantes LT/CT, micropartículas de poli(D,L-lactida-co-glicolida) (PLG), Quil A, interleucinas, adyuvante de Freund, N-acetil-muramyl-L-treonil-D-isoglutamina (thr-MDP), N-acetil-nor-muramyl-L-alanil-D-isoglutamina (CGP 11637, denominada nor-MDP), N-acetilmuramyl-L-alanil-D-isoglutaminil-L-alanina-2-(1'-2'-dipalmitoil-sn-glicero-3-hidroxfosforiloxi)-etilamina (CGP 19835A, denominada MTP-PE), y RIBI, que contiene tres componentes extraídos de bacterias, monofosforil lípido A, dimicolato de trehalosa y esqueleto de pared celular (MPL+TDM+CWS) en una emulsión de escualeno 2%/Tween 80.

El animal inmunizado puede ser cualquier animal que es capaz de producir anticuerpos recuperables cuando se le administra un inmunógeno, tal como, aunque sin limitación, conejos, ratones, ratas, hámsteres, cabras, caballos, monos, babuinos y humanos. En un aspecto, el hospedante es transgénico y produce anticuerpos humanos, p.ej., un ratón que expresa los segmentos génicos de inmunoglobulina humana. Patente de EE.UU. nº 8.236.311; 7.625.559 y 5.770.429. Lonberg *et al.*, *Nature* 368(6474): 856-859, 1994. Lonberg, N., "Handbook of Experimental Pharmacology" 113: 49-101, 1994. Lonberg, N. y Huszar, D., *Intern. Rev. Immunol.*, 13: 65-93, 1995. Harding, F. y Lonberg, N., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 764: 536-546, 1995.

Una vez inmunizado el hospedante y que los anticuerpos han sido producidos, se evalúa los anticuerpos para confirmar que son específicos para el antígeno de interés y para determinar si exhiben alguna reactividad cruzada con otros antígenos. Un método para llevar a cabo dichos ensayos es un ensayo de cribado de sueros como el descrito en la Publicación de Patente de EE.UU. nº 2004/0126829. Los anticuerpos anti-antígeno de carbohidrato se pueden caracterizar en términos de unión al carbohidrato mediante una serie de técnicas conocidas. Por ejemplo, en un ELISA, se recubren placas de microtitulación con la toxina o el antígeno toxoide en PBS, y a continuación se bloquean con proteínas irrelevantes tal como albúmina de suero bovino (BSA) diluida en PBS. Se añaden diluciones de plasma procedente de ratones inmunizados con la toxina a cada pocillo y se incuban. Las placas son lavadas y a continuación incubadas con un anticuerpo secundario conjugado a una enzima (p.ej., fosfatasa alcalina). Tras lavar, las placas son desarrolladas con el sustrato de la enzima (p.ej., ABTS), y analizadas a una DO específica. En otras realizaciones, para determinar si los anticuerpos monoclonales seleccionados se unen al antígeno de carbohidrato diana o a epítopos, el anticuerpo puede ser biotinilado, que puede ser detectado posteriormente con una sonda marcada con estreptavidina. Se puede evaluar la reactividad de los anticuerpos anti-antígeno de carbohidrato mediante un ensayo de transferencia Western blot.

Los hibridomas que producen anticuerpos que se unen, preferiblemente con afinidad elevada, al antígeno de carbohidrato, pueden ser subclonados entonces y caracterizados en mayor profundidad. A continuación, se puede elegir un clon de cada hibridoma, que retiene la reactividad de las células originales (mediante ELISA), para fabricar un banco de células, y para la purificación de anticuerpos.

Los anticuerpos, o los fragmentos de unión a antígeno, variantes o derivados de los mismos, de la presente descripción también pueden describirse o especificarse en términos de su afinidad de unión a un antígeno. La afinidad de un anticuerpo por un antígeno de carbohidrato se puede determinar experimentalmente usando cualquier método

adecuado (véase, p.ej., Berzofsky *et al.*, "Antibody-Antigen Interactions", en "Fundamental Immunology", Paul, W. E., Ed., Raven Press: Nueva York, N.Y. (1984); Kubly, Janis Immunology, W. H. Freeman and Company: Nueva York, N.Y. (1992); y los métodos descritos en la presente memoria). La afinidad medida de una interacción particular de anticuerpo-antígeno de carbohidrato puede variar si se mide en condiciones diferentes (p.ej., concentración salina, pH). Por tanto, las medidas de afinidad y de otros parámetros de la unión a antígeno (p.ej., K_D , K_a , K_d) se realizan preferiblemente con disoluciones estandarizadas de anticuerpos y antígenos, y con un tampón estandarizado.

Los presentes anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos tienen utilidad terapéutica, profiláctica y/o diagnóstica *in vitro* e *in vivo*. Por ejemplo, estos anticuerpos pueden administrarse a células en cultivo, p.ej., *in vitro* o *ex vivo*, a un sujeto, p.ej., *in vivo*, para tratar, inhibir, prevenir la recaída y/o diagnosticar el cáncer.

Los anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos pueden usarse en células en cultivo, p.ej., *in vitro* o *ex vivo*. Por ejemplo, se pueden cultivar células *in vitro* en medio de cultivo y ponerse en contacto con el anticuerpo anti-Globo H, o con un fragmento del mismo. Los métodos pueden llevarse a cabo en células presentes en un sujeto, como parte de un protocolo *in vivo* (p.ej., terapéutico o profiláctico). Para las realizaciones *in vivo*, la etapa de puesta en contacto se efectúa en un sujeto e incluye la administración de un anticuerpo anti-toxina, o de una porción del mismo, al sujeto en condiciones efectivas para permitir la unión del anticuerpo, o de la porción del mismo, a un antígeno de carbohidrato (p.ej., Globo H) expresado en una o más células de cáncer en el sujeto, p.ej., en la célula de cáncer de mama.

El anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo puede administrarse solo o en combinación con otro agente terapéutico, p.ej., un segundo anticuerpo monoclonal o policlonal, o una porción de unión a antígeno del mismo, o un agente quimioterapéutico. El producto de combinación puede ser una mezcla de los dos componentes o pueden unirse covalentemente. En un ejemplo, el anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a Globo H, está combinado con un anticuerpo (monoclonal o policlonal) o una porción de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a VEGF. En otro ejemplo, el segundo agente es un agente de quimioterapia (p.ej., ciclofosfamida, 5-fluorouracilo o actinomicina-D). Los anticuerpos también pueden administrarse en combinación con una vacuna de cáncer, p.ej., Globo H conjugado con toxina de difteria y una adyuvante de saponina.

Métodos para inhibir células de cáncer

La descripción también proporciona métodos para inhibir el crecimiento de una célula *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*, donde la célula, tal como una célula de cáncer, se pone en contacto con una cantidad efectiva de un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo como se describe en la presente memoria. Las células o tejidos patológicos, tal como células o tejidos hiperproliferativos, pueden ser tratados poniendo en contacto dichas células o tejidos con una cantidad efectiva de un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, de esta invención. Las células, tal como células de cáncer, pueden ser células de cáncer primarias o pueden ser células cultivadas disponibles en bancos de tejidos, tal como la "American Type Culture Collection" (ATCC). Las células patológicas pueden ser células de un cáncer que expresa Globo H, gliomas, meningiomas, adenomas de pituitaria o una metástasis al SNC a partir de un cáncer sistémico, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer hematopoiético o cáncer de ovario. Las células pueden ser de un vertebrado, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un humano. Publicación de Patente de EE.UU. nº 2004/0087651. Balassiano *et al.* (2002) *Intern. J. Mol. Med.* 10: 785-788. Thome, *et al.* (2004) *Neuroscience* 127: 481-496. Fernandes, *et al.* (2005) *Oncology Reports* 13: 943-947. Da Fonseca, *et al.* (2008) *Surgical Neurology* 70: 259-267. Da Fonseca, *et al.* (2008) *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 56: 267-276. Hashizume, *et al.* (2008) *Neurooncology* 10: 112-120. En una realización, el cáncer es cáncer que expresa Globo H. En otra realización, el cáncer es cáncer que expresa SSEA-3. En otra realización adicional, el cáncer es cáncer que expresa SSEA-4. El cáncer que expresa Globo H, el cáncer que expresa SSEA-3 y el cáncer que expresa SSEA-4 incluyen, aunque sin limitación, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer gástrico, cáncer de ovario y cáncer endometrial y cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer nasofaríngeo, cáncer de piel, cáncer oral, cáncer renal, cáncer de cerebro, cáncer cervical y cáncer de vejiga.

La eficacia *in vitro* del presente anticuerpo, o porción de unión a antígeno del mismo, puede determinarse usando métodos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede estudiar la citotoxicidad del anticuerpo o de la porción de unión a antígeno del mismo mediante el ensayo de citotoxicidad de MTT [bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio]. El ensayo MTT se basa en el principio de la captación de MTT, una sal de tetrazolio, por parte de células metabólicamente activas, donde es metabolizado en un producto de formazon de color azul, que puede ser leído espectrométricamente. *J. of Immunological Methods* 65: 55-63, 1983. La citotoxicidad del presente anticuerpo, o de la porción de unión a antígeno del mismo, puede estudiarse mediante el ensayo de formación de colonia. Los ensayos funcionales para la unión de antígeno de Globo H pueden llevarse a cabo mediante ELISA. Se puede estudiar el bloqueo del ciclo celular por parte del anticuerpo, o de la porción de unión a antígeno del mismo, mediante tinción estándar con yoduro de propidio (PI) y citometría de flujo. La inhibición de la invasión se puede estudiar mediante cámaras de Boyden. En este ensayo se recubre una capa de membrana de base reconstituida, Matrigel, sobre filtros de quimiotaxis que actúa como barrera para la migración de células en las cámaras de Boyden. Solo las células con capacidad invasiva pueden atravesar la barrera Matrigel. Otros ensayos incluyen, aunque sin limitación, ensayos de viabilidad celular, ensayos de apoptosis y ensayos morfológicos.

Los ensayos también pueden realizarse *in vivo* usando un modelo de ratón. Véase, p.ej., B. Teicher, "Tumor Models for Efficacy Determination". Mol Cancer Ther 2006; 5: 2435-2443.

Composición farmacéutica

En una realización, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Se describe además una composición farmacéutica que comprende un ácido nucleico aislado que codifica el presente anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, agentes isotónicos y agentes de retardo de la absorción, y similares que sean fisiológicamente compatibles. En una realización, la composición es efectiva para inhibir células de cáncer en un sujeto.

Las rutas de administración de las presentes composiciones farmacéuticas incluyen, aunque sin limitación, administración intravenosa, intramuscular, intranasal, subcutánea, oral, tópica, subcutánea, intradérmica, transdérmica, subdérmica, parenteral, rectal, espinal o epidérmica.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden prepararse como inyectables, tanto en disoluciones líquidas como en suspensiones líquidas, o en forma de sólidos que son adecuados para disolución o suspensión en vehículos líquidos antes de la inyección. La composición farmacéutica también puede prepararse en forma sólida, emulsificada o se puede encapsular el ingrediente activo en vehículos de liposomas u otros vehículos particulados usados para una administración sostenida. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede estar en la forma de una emulsión aceitosa, una emulsión de agua-en-aceite, una emulsión de agua-en-aceite-en-agua, una emulsión específica de sitio, una emulsión de residencia larga, una emulsión pegajosa, una microemulsión, una nanoemulsión, un liposoma, una micropartícula, una microesfera, una nanoesfera, una nanopartícula y diversos polímeros naturales o sintéticos, tales como polímeros impermeables no reabsorbibles tales como copolímeros de etilenvinil acetato y copolímeros Hytrel®, polímeros hinchables tales como hidrogeles, o polímeros reabsorbibles tales como colágeno y determinados poliácidos o poliésteres tal como los usados para fabricar suturas reabsorbibles, que permiten una liberación sostenida de la composición farmacéutica.

Los presentes anticuerpos o las porciones de unión a antígeno de los mismos se formulan en composiciones farmacéuticas para administración a un sujeto mamífero. La composición farmacéutica se administra sola, y/o mezclada con un vehículo, excipiente o portador farmacéuticamente aceptable. Los vehículos adecuados son, por ejemplo, agua, salino, dextrosa, glicerol, etano, o similares, y combinaciones de los mismos. Adicionalmente, el vehículo puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponantes del pH, o adyuvantes. Los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden contener un compuesto fisiológicamente aceptable que actúa para, p.ej., estabilizar, o aumentar o disminuir la absorción o las tasas de eliminación de las composiciones farmacéuticas de la invención. Los compuestos fisiológicamente aceptables pueden incluir, p.ej., carbohidratos, tal como glucosa, sacarosa o dextranos, antioxidantes, tal como ácido ascórbico o glutatión, agentes quelantes, proteínas de bajo peso molecular, detergentes, vehículos liposomales, o excipientes u otros estabilizantes y/o tampones. Otros compuestos fisiológicamente aceptables incluyen agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes dispersantes o conservantes. Véase, p.ej., la 21ª edición de "Remington's Pharmaceutical Science", Mack Publishing Company, Easton, Pa. ("Remington's"). Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden incluir sustancias complementarias, tal como agentes farmacológicos, citocinas u otros modificadores de respuesta biológica.

Adicionalmente, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en composiciones farmacéuticas en forma neutra o de sal. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de adición ácida (formadas con los grupos amino libres de los polipéptidos activos) y que se forman con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, los ácidos clorhídrico o fosfórico, o con ácidos orgánicos tales como acético, oxálico, tartárico, mandélico, y similares. Las sales formadas a partir de grupos carboxilo libres también pueden derivar de bases inorgánicas tales como, por ejemplo, hidróxido sódico, potásico, amónico, cálcico o férrico, y bases orgánicas como isopropilamina, trimetilamina, 2-etilamino etanol, histidina, procaína, y similares.

Los métodos reales para preparar dichas formas de dosis son conocidos, o serán evidentes, por los especialistas en la técnica. Véase, p.ej., "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 21ª edición.

Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar en un tratamiento de dosis única o en tratamientos de dosis múltiples con un calendario y a lo largo de un periodo de tiempo apropiado para la edad, peso y condición del sujeto, la composición particular usada, y la ruta de administración, si la composición farmacéutica se usa para fines profilácticos o curativos, etc. Por ejemplo, en una realización, la composición farmacéutica según la invención se administra una vez al mes, dos veces al mes, tres veces al mes, cada dos semanas (qow), una vez a la semana (qw), dos veces por semana (biw), tres veces por semana (tiw), cuatro veces por semana, cinco veces por semana, seis veces por semana, cada dos días (qod), diariamente (qd), dos veces al día (qid), o tres veces al día (tid).

La duración de la administración de un anticuerpo según la invención, p.ej., el periodo de tiempo durante el cual se administra la composición farmacéutica puede variar, dependiendo de cualquiera de una variedad de factores, p.ej., la respuesta del sujeto, etc. Por ejemplo, la composición farmacéutica se puede administrar a lo largo de un periodo de tiempo que oscila entre aproximadamente uno o más segundos y una o más horas, entre un día y aproximadamente una semana, entre aproximadamente dos semanas y aproximadamente cuatro semanas, entre aproximadamente un mes y aproximadamente dos meses, entre aproximadamente dos meses y aproximadamente cuatro meses, entre aproximadamente cuatro meses y aproximadamente seis meses, entre aproximadamente seis meses y aproximadamente ocho meses, entre aproximadamente ocho meses y aproximadamente 1 año, entre aproximadamente 1 año y aproximadamente 2 años, o entre aproximadamente 2 años y aproximadamente 4 años, o más.

Para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación, se pueden usar composiciones farmacéuticas orales o parenterales en forma de dosis unitaria. La forma de dosis unitaria tal como se usa en la presente memoria se refiere a unidades físicamente discretas preparadas como dosis unitarias para el sujeto a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido.

Los datos obtenidos a partir de los ensayos de cultivo celular y de estudios animales se pueden usar para formular un rango de dosis para uso en humanos. En una realización, la dosis de dichos compuestos se encuentra en un rango de concentraciones en circulación que incluyen la ED₅₀ con poca o ninguna toxicidad. La dosis puede variar dentro de dicho rango dependiendo de la forma de dosis empleada y de la ruta de administración utilizada. En otra realización, la dosis terapéuticamente efectiva puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Se puede formular una dosis en modelos animales para alcanzar un rango de concentración en plasma en circulación que incluye la IC₅₀ (es decir, la concentración del compuesto de ensayo que alcanza una inhibición mitad de la máxima de los síntomas), determinada en cultivo celular. Sonderstrup, Springer, Sem. Immunopathol. 25: 35-45, 2003. Nikula *et al.*, Inhal. Toxicol. 4(12): 123-53, 2000.

Un ejemplo no limitativo de rango para la cantidad terapéuticamente o profilácticamente efectiva de un anticuerpo o una porción de unión a antígeno de la invención está entre aproximadamente 0,001 y aproximadamente 60 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 10 y aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 0,75 y aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 2 y aproximadamente 9 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 2 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 3 y aproximadamente 8 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 5 y aproximadamente 6 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 8 y aproximadamente 13 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 8,3 y aproximadamente 12,5 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 4 y aproximadamente 6 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 4,2 y aproximadamente 6,3 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 1,6 y aproximadamente 2,5 mg/kg de peso corporal, entre aproximadamente 2 y aproximadamente 3 mg/kg de peso corporal, o aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal.

La composición farmacéutica se formula para contener una cantidad efectiva del presente anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo, donde la cantidad depende del animal a tratar y de la afección a tratar. En una realización, el presente anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo se administra a una dosis que oscila entre aproximadamente 0,01 mg y aproximadamente 10 g, entre aproximadamente 0,1 mg y aproximadamente 9 g, entre aproximadamente 1 mg y aproximadamente 8 g, entre aproximadamente 2 mg y aproximadamente 7 g, entre aproximadamente 3 mg y aproximadamente 6 g, entre aproximadamente 10 mg y aproximadamente 5 g, entre aproximadamente 20 mg y aproximadamente 1 g, entre aproximadamente 50 mg y aproximadamente 800 g, entre aproximadamente 100 mg y aproximadamente 500 mg, entre aproximadamente 0,01 µg y aproximadamente 10 g, entre aproximadamente 0,05 µg y aproximadamente 1,5 mg, entre aproximadamente 10 µg y aproximadamente 1 mg de proteína, entre aproximadamente 30 µg y aproximadamente 500 µg, entre aproximadamente 40 µg y aproximadamente 300 µg, entre aproximadamente 0,1 µg y aproximadamente 200 µg, entre aproximadamente 0,1 µg y aproximadamente 5 µg, entre aproximadamente 5 µg y aproximadamente 10 µg, entre aproximadamente 10 µg y aproximadamente 25 µg, entre aproximadamente 25 µg y aproximadamente 50 µg, entre aproximadamente 50 µg y aproximadamente 100 µg, entre aproximadamente 100 µg y aproximadamente 500 µg, entre aproximadamente 500 µg y aproximadamente 1 mg, entre aproximadamente 1 mg y aproximadamente 2 mg. El nivel de dosis específico para cualquier sujeto particular depende de una variedad de factores que incluyen la actividad de péptido específico, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la ruta de administración, y la velocidad de excreción, la combinación de fármacos y la gravedad de la enfermedad particular a la que se aplica la terapia, y puede ser determinada por un especialista en la técnica sin ninguna experimentación adicional.

Los presentes anticuerpos, y las porciones de unión a antígeno de los mismos, las composiciones farmacéuticas y los métodos se pueden usar en todos los vertebrados, p.ej., mamíferos y no mamíferos, que incluye humanos, ratones,

ratas, cobayas, hámsteres, perros, gatos, vacas, caballos, cabras, ovejas, cerdos, monos, simios, gorilas, chimpancés, conejos, patos, gansos, pollos, anfibios, reptiles y otros animales.

Los siguientes ejemplos de aspectos específicos para llevar a cabo la presente invención se ofrecen meramente con fines ilustrativos, y no se pretende que limiten el alcance de la presente invención en modo alguno.

5 Ejemplos

Ejemplo 1: Fusión de hibridoma y cribado

Se llevó a cabo una fusión de hibridoma clásica. Los ratones recibieron su primera inmunización con Globo H-KLH (hemocianina de lapa de ojo de cerradura) conjugado con adyuvante de saponina y 3 recuerdos posteriores en los días 7, 14 y 24. Los ensayos de sangrado se llevaron a cabo en el día 10, 17, 21 y 24, y se evaluó el suero para comprobar los títulos de anticuerpos anti-Globo H. Se observó que cinco ratones producían títulos elevados de IgG anti-Globo H y de IgM anti-Globo H, y se usaron para la producción de hibridoma. Las células de mieloma fueron usadas para la fusión con los esplenocitos de ratón siguiendo el procedimiento de KÖhler y Milstein (KÖhler G. y Milstein C., 1975). Los sobrenadantes fueron cribados mediante ELISA de afinidad con 0,2 µg de Globo H-ceramida/pocillo. El mAb anti-Globo H Vk9 sirvió como control positivo. Se seleccionó la DO de clon de hibridoma sin dilución de sobrenadante > señal de fondo x 2. Los cinco primeros clones de hibridoma fueron 1E1, 2C2, 2F8, 3D7, 7A11.

Ejemplo 2: Análisis cinético de anticuerpos monoclonales de ratón

Los experimentos cinéticos de unión se llevaron a cabo a 25°C con Biacore T100 (GE Healthcare) mediante el método de cinética de ciclo sencillo (SCK) y el método de cinética de ciclo múltiple (MCK).

Se inmovilizó Globo H mediante acoplamiento de amina, según las instrucciones del fabricante. La Globo H-amina se diluyó hasta 15 mg/mL en tampón de inmovilización (acetato sódico 10 mM, pH 4,5) y se inmovilizó a 25°C usando un caudal de 5 µL/min.

Los anticuerpos anti-Globo H (mAb Globo H-Vk9, mAb Globo H-2C2 y mAb Globo H-3D7) fueron diluidos en tampón de elución hasta 200 nM (50 nM). Se mezclaron 200 µL de la disolución 200 nM (50 nM) con 200 µL de tampón de elución para obtener una disolución 100 nM (25 nM). La dilución continuó durante la siguiente serie de dilución: 200, 100, 50, 25 y 12,5 nM (concentración de analito: 50 nM, 25 nM, 12,5 nM, 6,25 nM, 3,125 nM). Las muestras de dilución fueron colocadas en Posiciones Rack y evaluadas mediante los métodos MCK y SCK. Las muestras para las series MCK y SCK fueron sometidas a un tiempo de disociación de 420 segundos. La superficie fue regenerada mediante una inyección de 40 segundos de una disolución de glicina 10 mM pH 2,0/1,5 (v/v=1). Los datos de SCK y MCK fueron ajustados con un modelo de unión 1:1 con el software de evaluación Biacore 2.0.

Los resultados fueron analizados para determinar la constante de disociación (K_D), que es la medida usada para describir la fortaleza de unión entre el anticuerpo y el antígeno, k_{on} (1/Ms), la velocidad de activación a la cual se forman los complejos anticuerpo-antígeno, k_{off} (1/s), la velocidad de desactivación a la que se disocian los complejos anticuerpo-antígeno, R_{max} , la máxima cantidad de respuesta de analito. La Tabla 2 muestra los datos de afinidad y cinéticos para los anticuerpos anti-Globo H a partir de los siguientes hibridomas: VK9, 2C2 y 3D7. El anticuerpo 3D7 y el anticuerpo 2C2 presentan una mayor afinidad de unión que el anticuerpo VK9.

Tabla 2. Datos cinéticos para los anticuerpos anti-Globo H

Hibridoma	K_D (M)	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	R_{max}	χ^2
VK9	1,436E-7	2,994E+4	4,298E-3	68,3	8,48
3D7	7,854E-9	2,760E+5	2,168E-3	203,5	0,6514
2C2	7,631E-9	2,810E+5	2,144E-3	187,4	0,542

Ejemplo 3: Análisis de afinidad de anticuerpos anti-Globo H

Los siguientes anticuerpos anti-Globo H fueron evaluados para determinar la EC_{50} y el % de unión a célula: mAb Globo H-VK9, mAb Globo H-1E1, mAb Globo H-2C2, mAb Globo H-2F8, mAb Globo H-3D7, mAb Globo H-7A11.

Procedimientos:

ELISA de afinidad para EC_{50} : los pocillos fueron recubiertos con 0,2 µg de Globo H-ceramida por pocillo en hielo. Tras bloquear, se añadió a los pocillos el anticuerpo evaluado desde 6,2 ng/mL hasta 51200 ng/mL. Tras incubación durante 1 hora a temperatura ambiente, se eliminó el exceso de anticuerpo lavando 3 veces. Se añadió anti-IgG-HRP de ratón (1:533). Se cuantificó el desarrollo de color en un lector de placa a 490 nm. Se determinó la EC_{50} mediante el software Prism 5.0.

FACS para % de unión a célula con anticuerpo: se prepararon las líneas de células de cáncer para un total de 200.000 células en 50 µL de tampón FACS por tubo. Se añadió el anticuerpo indicado para alcanzar una concentración final de 1 µg/mL. Tras someter a vórtice de forma suave, los tubos fueron colocados en hielo y se incubaron durante aproximadamente 1 h. Tras lavar con tampón FACS, se añadió IgG-PE anti-ratón en tampón FACS hasta una concentración final de 4 µg/mL. Tras someter un vórtice de forma suave, los tubos se colocaron en hielo y se incubaron durante aproximadamente 30 minutos. Tras lavar con tampón FACS, las células de ensayo se resuspendieron en 200 µL de tampón FACS. Tras llevar a cabo la citometría de flujo, se analizó el porcentaje de unión a célula mediante el software WinMDI. En el gráfico de histograma, solo se usó la incubación de anticuerpo secundario para definir la región de fondo (M1) y de unión (M2). Se determinó el porcentaje de región de unión (M2) del anticuerpo indicado en base a fijar solo el anticuerpo secundario como fondo (M1).

La unión de anticuerpo a Globo H en la línea de células de cáncer de mama (MCF-7), la línea de células de cáncer de pulmón (LLC1) y la línea de células pancreáticas (HPAC) se evaluó usando análisis de clasificación celular activada por fluorescencia (FACS).

Resultados: La Tabla 3 resume los datos de EC₅₀ de mAb Globo H-2C2, mAb Globo H-2F8, mAb Globo H-3D7, mAb Globo H-7A11, y mAb Globo H-1E1. Los resultados muestran que el mAb Globo H-2C2, mAb Globo H-2F8, mAb Globo H-3D7, y mAb Globo H-7A11 son más efectivos para neutralizar el antígeno de Globo H que el mAb Globo H-VK9. El análisis de FACS muestra que mAb Globo H-2C2 y mAb Globo H-3D7 presentan una mayor afinidad de unión por el antígeno Globo H sobre la línea celular de cáncer de mama en comparación con el mAb Globo H VK9. Adicionalmente, mAb Globo H-2C2 y mAb Globo H-3D7 presentan una mayor afinidad de unión a antígeno de Globo H sobre la línea celular de cáncer pancreático (HPAC) que mAb Globo H VK9. Además, mAb Globo H-1E1, mAb Globo H-2C2, mAb Globo H-3D7 y mAb H-7A11 presentan una mayor afinidad de unión a antígeno de Globo H sobre la línea celular de cáncer de pulmón (LLC1) que mAb Globo H VK9.

Tabla 3. EC₅₀ y afinidad de unión de anticuerpos anti-Globo H

Hibridoma	ELISA EC ₅₀ (ng/mL)	MCF-7 % aceptado	LLC1 % aceptado	HPAC % aceptado
VK9	8915,85	82,63	7,67	33,63
1E1	12914,62	70,63	14,61	24,47
2C2	2161,56	87,44	10,24	39,73
2F8	8691,14	65,95	8,87	12,32
3D7	4072,24	86,87	11,00	34,11
7A11	3478,15	59,64	16,70	15,05

El valor EC₅₀ es la concentración de anticuerpo que neutraliza el 50% de Globo H.

Ejemplo 4: Evaluación anti-tumoral *in vivo* de anticuerpos anti-Globo H

Se dividieron aleatoriamente ratones nude con un peso de 33 g con xenoinjerto de cáncer pancreático humano (HPAC) en los siguientes 6 grupos de estudio:

Grupos en Fig. 1	Tratamiento	N	Dosis	Hibridoma
PBS (control)	Solo PBS (salino tamponado con fosfato)	4	0,4 µg/g dos veces por semana vía inyección intraperitoneal	-
VK9	mAb Globo H VK9	4		VK9
2C2	mAb Globo H 2C2	4		2C2
3D7	mAb Globo H 3D7	4		3D7

Los ratones fueron observados durante un periodo de 29 días en términos de volumen tumoral, y los resultados se registraron y se resumen en la Fig. 1.

Resultados: en el día 29, el volumen tumoral se había reducido en el siguiente orden: grupos VK9=3D7<2C2. El volumen tumoral del grupo 2C2 se vio reducido significativamente en comparación con el grupo de control (P<0,05).

Ejemplo 5: Evaluación anti-tumoral *in vivo* de anticuerpos anti-Globo H

Se dividieron de forma aleatoria ratones nude con un peso de 27 g con xenoinjerto de cáncer de mama humano (MCF7) en los siguientes 5 grupos de estudio:

Grupos en Fig. 2	Tratamiento	N	Dosis	Hibridoma
Salino normal (vehículo)	Solo PBS	8		-
2C2	mAb Globo H 2C2	8	0,4 mg/kg en el Día 1	2C2
2C2	mAb Globo H 2C2	8	4 mg/kg en el Día 1	2C2

Los ratones fueron observados durante un periodo de 18 días en términos de volumen tumoral, y los resultados se registraron y se resumen en la Fig. 2.

- 5 Resultados: tal como se muestra en la Fig. 2, el volumen tumoral se había reducido en los siguientes grupos en comparación con el control: 2C2 (4 mg/kg)>2C2 (0,4 mg/kg) después del Día 15. Desde el Día 8, el volumen tumoral de 2C2 (4 mg/kg) se vio reducido significativamente en comparación con el grupo de control ($P<0,05$).

Ejemplo 6: Reactividad cruzada de anticuerpos anti-Globo H

Se realizó una evaluación de la reactividad cruzada *in vitro* de anticuerpo anti-Globo H (mAb Globo H 2C2, 7A11, 3D7, 2F8, 1E1 y Globo H V9).

- 10 Procedimiento:

Se añadieron cartuchos GlycoDx con 620 μ L de tampón de lavado, 100 μ L de anticuerpos anti-Globo H diluidos, 100 μ L de tampón de bloqueo, 120 μ L de tampón conjugado, 120 μ L de tampón de sustrato. El cartucho se detectó con el analizador CCD, y los datos se volcaron a la hoja de cálculo Excel para su posterior análisis.

- 15 Resultados: tal como se muestra en la Fig. 3A, mAb Globo H 2C2 se une a Globo H y muestra reactividad cruzada con otros antígenos de carbohidrato, tal como los antígenos Lewis (sLe^x y sLe^a) y los antígenos S15-S27 (véase la Tabla 4 para la lista de antígenos de carbohidrato). mAb Globo H 7A11 se une a Globo H y muestra reactividad cruzada con otros antígenos de carbohidrato, tal como los antígenos Lewis (sLe^x y sLe^a) y los antígenos S15-S17, S19-S22 (véase la Fig. 3B). mAb Globo H 3D7 se une a Globo H y muestra reactividad cruzada con otros antígenos de carbohidrato, tal como los antígenos Lewis (sLe^x , sLe^a y Le^y) y los antígenos S15-S22 (véase la Fig. 3C). mAb Globo H 2F8 se une a Globo H y muestra reactividad cruzada con otros antígenos de carbohidrato, tal como los antígenos Lewis (sLe^x y sLe^a) y los antígenos S15, S17 y S21 (véase la Fig. 3D). mAb Globo H 1E1 se une a Globo H y muestra reactividad cruzada con otros antígenos de carbohidrato, tal como los antígenos Lewis (sLe^x) y los antígenos S16, S17 y S20-S22 (véase la Fig. 3E). Por el contrario, mAb Globo H VK9 solo se une a Globo H y no muestra reactividad cruzada con otros antígenos de carbohidrato (véase la Fig. 3F).

- 25 Tabla 4. Lista de antígenos de carbohidrato en las Figuras 3A-3C.

Abreviatura	Antígeno de carbohidrato	Abreviatura	Antígeno de carbohidrato
S15	α -GalNAc(Tn)	S25	6Gal-HSO3-SiaLex
S16	α -NeuAc-OCH ₂ C ₆ H ₄ -p-NHCOOCH ₂	S26	6GluNAc-HSO3-SiaLex
S17	Fu α 1-2Gal β 1-4GalNAc β (H tipos3)	S27	α 2-6 N-glicanos sialilados dantenarios
S18	Ácido NeuAca2-8NeuAca α 1-(NeuAca2-8)2 polisiálico	S28	GalNAc β 1-4(NeuAca2-8NeuAca2-3)Gal β 1-4Glc- β -Nac-espaciador 3-Biotina (GD2)
S19	NeuAca2-6Galb	S29	GalNAc β 1-4(NeuAca2-3)Gal β 1-4Glc- β -Nac-espaciador 3-Biotina (GM2)
S20	NeuAcb2-6Gala(STn)	S30 (SSEA4)	Neu5Aca2-3Gal β 1-3GalNAc β 1-3Gal α 1-4Gal β 1-4Glc β -Nac-espaciador 3-Biotina (SSEA4)
S21	Gala1-3Galb1-4GlaNAcb	S31	NeuAca2-8NeuAca2-3Gal β 1-4Glc- β -Nac-espaciador 3-Biotina (GD3)
S22	(NeuAca2-8)3	S32	Fu α 1-2Gal β 1-3GalNAc β 1-4(Neu5Aca2-3)Gal β 1-4Glc β -Nac-espaciador 3-Biotina (Fucosil-GM1)

Ejemplo 7: Afinidad de unión de anticuerpo anti-Globo H

Se realizó una evaluación *in vitro* de los siguientes anticuerpos anti-Globo H humanizados. La Tabla 5 enumera las secuencias de aminoácido de las regiones de cadena pesada y de las regiones de cadena ligera del anticuerpo humanizado procedente del hibridoma 2C2.

5 Tabla 5. Secuencias de aminoácido de anticuerpo humanizado 2C2

Región de Cadena Ligera o Región de Cadena Pesada	Secuencia de Aminoácidos
Cadena Ligera 2	FW1: LSPGERATLSC (SEQ ID NO: 88) CDR1: RASSSVSYMH (SEQ ID NO: 8) FW2: WYQQKPGSSPKPWIY (SEQ ID NO: 12) CDR2: ATSNLAS (SEQ ID NO: 9) FW3: GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYC (SEQ ID NO: 90) CDR3: QQWSRNPFT (SEQ ID NO: 10)
Cadena Ligera 2-22	FW1: SEQ ID NO: 88 CDR1: SEQ ID NO: 8 FW2: WYQQKPGSSPKLWIY CDR2: SEQ ID NO: 9 FW3: SEQ ID NO: 90 CDR3: SEQ ID NO: 10
Cadena Ligera 2-23	FW1: SEQ ID NO: 88 CDR1: SEQ ID NO: 8 FW2: WYQQKPGSSPKPLIY CDR2: SEQ ID NO: 9 FW3: SEQ ID NO: 90 CDR3: SEQ ID NO: 10
Cadena Pesada 2	FW1: SGPTLVKPTQTLTCTFSGFSL (SEQ ID NO: 87) CDR1: YTFDMGVG (SEQ ID NO: 5) FW 2: WIRQPSGKGLEWLA (SEQ ID NO: 11) CDR 2: HIWDDDKYYNPALKS (SEQ ID NO: 6) FW3: RLTISKDTSKNQVLTMTNMDPVDATATYYCAR (SEQ ID NO: 89) CDR 3: VRGLHDYYYWFAY (SEQ ID NO: 7)
Cadena Pesada 2-21	FW1: SEQ ID NO: 87 CDR1: SEQ ID NO: 5 FW 2: WIRQPPGKGLEWLA CDR 2: SEQ ID NO: 6 FW3: SEQ ID NO: 89 CDR 3: SEQ ID NO: 7
Cadena Pesada 2-22	FW1: SEQ ID NO: 87 CDR1: SEQ ID NO: 5 FW 2: WIRQPSGKALEWLA CDR 2: SEQ ID NO: 6 FW3: SEQ ID NO: 89 CDR 3: SEQ ID NO: 7

Los resultados de la afinidad de unión mediante el método ELISA se presentan en las Tablas 6-9.

Tabla 6: Afinidad de unión de un anticuerpo con una cadena ligera quimérica y una cadena pesada humanizada.

Cadena Ligera	Cadena Pesada	Afinidad ELISA (densidad óptica)
Cadena Ligera quimérica (SEQ ID NO: 4)	Cadena Pesada 2-22	0,17
Cadena Ligera quimérica	Cadena Pesada 2	0,4

(SEQ ID NO: 4)		
----------------	--	--

Estos resultados muestran que la alteración del aminoácido de la posición 9 (de G a A) en FW2 de la cadena pesada reduce la afinidad de unión del anticuerpo desde 0,4 a 0,17.

Tabla 7: Afinidad de unión de un anticuerpo con una cadena ligera humanizada y una cadena pesada humanizada.

Cadena Ligera	Cadena Pesada	Afinidad ELISA (densidad óptica)
Cadena Ligera 2	Cadena Pesada 2	0,42
Cadena Ligera 2-22	Cadena Pesada 2	0,08
Cadena Ligera 2-23	Cadena Pesada 2	0,09

5

Tabla 8: Afinidad de unión de un anticuerpo con una cadena ligera humanizada y una cadena pesada humanizada.

Cadena Ligera	Cadena Pesada	Afinidad ELISA (densidad óptica)
Cadena Ligera 2	Cadena Pesada 2-21	0,53
Cadena Ligera 2-22	Cadena Pesada 2-21	0,08
Cadena Ligera 2-23	Cadena Pesada 2-21	0,12

Tabla 9: Afinidad de unión de un anticuerpo con una cadena ligera humanizada y una cadena pesada humanizada.

Cadena Ligera	Cadena Pesada	Afinidad ELISA (densidad óptica)
Cadena Ligera 2	Cadena Pesada 2-22	0,32
Cadena Ligera 2-22	Cadena Pesada 2-22	0,07
Cadena Ligera 2-23	Cadena Pesada 2-22	0,08

10 Estos resultados muestran que la alteración del aminoácido de la posición 12 de FW2 de la cadena ligera (de P a L) reduce la afinidad de unión desde 0,32-0,53 a 0,07-0,08, y que la alteración del aminoácido de la posición 13 de FW2 de la cadena ligera (de W a L) reduce la afinidad de unión desde 0,32-0,53 a 0,08-0,12.

Listado de Secuencias: SEQ ID NO. 1 – 90

Clones de hibridoma	Región de cadena	Secuencia	SEQ ID No.
2C2	Región Variable de Cadena Pesada (Vh)	Secuencia de ácido nucleico TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTCTTTCTCT GGATTTTCACTGTACACTTTTGATATGG GTGTAGGCTGGATTTCGTCAGCCTTCAGG GAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACAT TTGGTGGGATGATGATAAGTACTATAAC CCAGCCCTGAAGAGTCGGCTCACAGTCT CCAAGGATACCTCCAAAAACCAGGTCTT CCTCAAGATCCCCAATGTGGACACTGCA GATAGTGCCACATACTACTGTGCTCGAG TAAGGGGCCTCCATGATTATTACTACTG GTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTG GTCACTGTCTCT	1

2C2	Región Variable de Cadena Ligera (VL)	Secuencia de ácido nucleico GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAATG ACTTGCAGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTT ACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAG GATCCTCCCCCAAACCCTGGATTTATGC CACATCCAACCTGGCGTCTGGAGTCCCT GCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGA CCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGAGT GGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTTTC TGCCAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTC ACGTTCCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAA ATAAGA	2
2C2	Región Variable de Cadena Pesada (Vh)	Secuencia de aminoácidos SGPG ILQPSQTL SL TCSFSGFSLY TFDMGVGWIR QPSGKGLEWL AHIWWDDDKY YNPALKSRLT VSKDTSKNQV FLKIPNVDTA DSATYYCARV RGLHDYYYWF AYWGQGLVT VS	3
2C2	Región Variable de Cadena Ligera (VL)	Secuencia de aminoácidos ASPGKVT MTCRASSSVS YMHYQQKPG SSPKWIYAT SNLASGVPAR FSGSGSGTSY SLTISRVEAE DAATYFCQQW SRNPFTFGSG TKLEIR	4
2C2	CDR1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos YTFDMGVG	5
2C2	CDR2 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos HIWWDDDKYYPALKS	6
2C2	CDR3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos VRGLHDYYYWFAY	7
2C2	CDR1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos RASSSVSYMH	8
2C2	CDR2 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos ATSNLAS	9
2C2	CDR3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos QQWSRNPFT	10
2C2	Estructura 2 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos WIRQPSGKGLEWLA	11
2C2	Estructura 2 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos WYQQKPGSSPKWIY	12
3D7	Región Variable de Cadena Pesada (Vh)	Secuencia de aminoácidos SGPGILQPSQTL SLTCSFSGFSL YTFDMGV GWIRQPSGKGLEWLAHIWWDDDKYYP ALKSRLTVSKDTSKNQVFLKIPNVDADS ATYYCARVRGLHDYYYWFAYWGQGL VTVS	13
3D7	Región Variable de Cadena Ligera (VL)	Secuencia de aminoácidos ASPGKVTMTCRASSSVSYMHYQQKPG SSPKWIY ATSNLASGVP ARFSGSGSGTSY SLTISRVEAEDAATYFCQQWSRNPFTFGS GTKLEIR	14
3D7	CDR1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos YTFDMGVG	15
3D7	CDR2 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos HIWWDDDKYYPALKS	16
3D7	CDR3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos VRGLHDYYYWFAY	17

3D7	CDR1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos RASSSVSYMH	18
3D7	CDR2 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos ATSNLAS	19
3D7	CDR3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos QQWSRNPFT	20
7A11	Región Variable de Cadena Pesada (Vh)	Secuencia de aminoácidos SGPGILQPSQTLTLTCSFSGFSLYTFDMGV GWIRQPSGKGLEWLAQIWWDDDKYYNP GLKSRLTISKDTSKNQVFLKIPNVDADSA TYYCARIRGLRDYYYWFAYWGQGLVT VS	21
7A11	Región Variable de Cadena Ligera (VL)	Secuencia de aminoácidos ASPGKVTMTCRASSSVSYMHYQQKPG SSPKPWYATSNLASGVPARFSGSGSGTSY SLTISRVEAEDAATYFCQQWSRNPFTFGS GTKLEIR	22
7A11	CDR1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos YTFDMGVG	23
7A11	CDR2 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos QIWWDDDKYYNPGLKS	24
7A11	CDR3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos IRGLRDYYYWFAY	25
7A11	CDR1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos RASSSVSYMH	26
7A11	CDR2 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos ATSNLAS	27
7A11	CDR3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos QQWSRNPFT	28
2C2	CDR1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos TACACTTTTGATATGGGTGTAGGC	45
2C2	CDR2 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos CACATTTGGTGGGATGATGATAAGTACTATA ACCCAGCCCTGAAGAGT	46
2C2	CDR3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos GTAAGGGGCCTCCATGATTATTACTACTG GTTTTGCTTAC	47
2C2	CDR1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos AGGGCCAGTTCAAGTGAAGTTACATGCAC	48
2C2	CDR2 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos GCCACATCCAACCTGGCGTCT	49
2C2	CDR3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos CAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTACG	50

3D7	Región Variable de Cadena Pesada (Vh)	Secuencia de aminoácidos TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCT GGATTTTCACTGTACACTTTTGATATGGG TGTAGGCTGGATTTCGTCAGCCTTCAGGG AAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATTT GGTGGGATGATGATAAGTACTATAACCC AGCCCTGAAGAGTCGGCTCACAGTCTCC AAGGATACCTCCAAAAACCAGGTCTTCC TCAAGATCCCAATGTGGACACTGCAGA TAGTGCCACATACTACTGTGCTCGAGTA AGGGGCCTCCATGATTATTACTACTGGTT TGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTC ACTGTCTCT	51
3D7	Región Variable de Cadena Ligera (VL)	Secuencia de aminoácidos GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAATG ACTTGCAGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTT ACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAG GATCCTCCCCCAAACCCTGGATTTATGCC ACATCCAACCTGGCGTCTGGAGTCCCTG CTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGAC CTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGAGTG GAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTTCT GCCAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTAC GTTCCGGCTCGGGGACAAAGTTGAAATA AGA	52
3D7	CDR1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos TACACTTTTGATATGGGTGTAGGC	53
3D7	CDR2 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos CACATTTGGTGGGATGATGATAAGTACTA TAACCCAGCCCTGAAGAGT	54
3D7	CDR3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos GTAAGGGGCCTCCATGATTATTACTACTG GTTTGCTTAC	55
3D7	CDR1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos AGGGCCAGTTCAAGTGTAAGTTACATGC AC	56
3D7	CDR2 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos GCCACATCCAACCTGGCGTCT	57
3D7	CDR3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos CAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTACG	58
7A11	Región Variable de Cadena Pesada (Vh)	Secuencia de aminoácidos TCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCC AGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCT GGATTTTCACTGTACACTTTTGATATGGG TGTAGGCTGGATTTCGTCAGCCTTCAGGG AAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACAAATTT GGTGGGATGATGATAAGTACTATAACCC AGGCCTGAAGAGTCGGCTCACAATCTCC AAGGATACCTCCAAAAACCAGGTATTCC TCAAGATCCCAATGTGGACACTGCAGA TAGTGCCACATACTACTGTGCTCGAATAA GGGGCCTCCGTGATTATTACTACTGGTTT GCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCA CTGTCTCT	59

7A11	Región Variable de Cadena Ligera (VL)	Secuencia de aminoácidos GCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACAATG ACTTGCAAGGCCAGCTCAAGTGTAAGTT ACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAG GATCCTCCCCCAAACCCTGGATTTATGCC ACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTG CTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGAC CTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGAGTG GAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTTCT GCCAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTAC GTTCCGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATA AGA	60
7A11	CDR1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos TACACTTTTGATATGGGTGTAGGC	61
7A11	CDR2 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos CAAATTTGGTGGGATGATGATAAGTACTA TAACCCAGGCCTGAAGAGT	62
7A11	CDR3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos ATAAGGGGCCTCCGTGATTATTACTACTG GTTTGCTTAC	63
7A11	CDR1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos AGGGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGC AC	64
7A11	CDR2 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos GCCACATCCAACCTGGCTTCT	65
7A11	CDR3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos CAGCAGTGGAGTCGAAACCCATTACG	66
2C2	Estructura 1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos SGPGILQPSQTLTLTCSFSGFSL	83
2C2	Estructura 1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos ASPGEKVTMTC	84
2C2	Estructura 3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos RLTVSKDTSKNQVFLKIPNVDTA DSATYYCAR	85
2C2	Estructura 3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos GVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAE DAATYFC	86
2C2	Estructura 1 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos de anticuerpo humanizado SGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFSL	87
2C2	Estructura 1 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos de anticuerpo humanizado LSPGERATLSC	88
2C2	Estructura 3 de Cadena Pesada	Secuencia de aminoácidos de anticuerpo humanizado RLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDTATYY CAR	89
2C2	Estructura 3 de Cadena Ligera	Secuencia de aminoácidos de anticuerpo humanizado GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDATYY C	90

LISTA DE SECUENCIAS

	<110> OBI Pharma Inc. Yu, Cheng-Der Tony	
	<120> ANTICUERPOS, COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS Y SUS USOS	
5	<130> 5076-0014-PCT	
	<150> 61/977,824	
	<151> 10-04-2014	
10	<150> 62/057,381	
	<151> 30-09-2014	
	<160> 90	
15	<170> PatentIn versión 3.5	
	<210> 1	
	<211> 348	
20	<212> ADN	
	<213> ratón	
	<400> 1	
	tctggccctg ggatattgca gccctcccag accctcagtc tgacttggtc tttctctgga	60
	ttttcactgt acacttttga tatgggtgta ggctggattc gtcagccttc agggaagggt	120
	ctggagtggc tggcacacat ttggtgggat gatgataagt actataaccc agccctgaag	180
	agtcggtcga cagtctccaa ggatacctcc aaaaaccagg tcttcctcaa gatccccaat	240
	gtggacactg cagatagtgc cacatactac tgtgtctgag taaggggcct ccatgattat	300
25	tactactggt ttgcttactg gggccaaggg actctggtca ctgtctct	348
	<210> 2	
	<211> 282	
	<212> ADN	
	<213> ratón	
30	<400> 2	
	gcatctccag gggagaaggc cacaatgact tgcagggcca gttcaagtgt aagttacatg	60
	cactggtacc agcagaagcc aggatcctcc cccaaaccct ggatttatgc cacatccaac	120
	ctggcgtctg gactccctgc tcgcttcagt ggcagtgggt ctgggacctc ttactctctc	180
	acaatcagca gactggaggc tgaagatgct gccacttatt tctgccagca gtggagtcga	240
	aaccattca cgttcggctc ggggacaaag ttggaataa ga	282
	<210> 3	
35	<211> 116	
	<212> PRT	
	<213> ratón	
	<400> 3	
40	Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys	

ES 2 772 817 T3

[illegible]

<210> 4
<211> 94
<212> PRT
<213> ratón

<400> 4
Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser
1 5 10 15

Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys
20 25 30

Pro Trp Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg
35 40 45

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg
50 55 60

Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Trp Ser Arg
65 70 75 80

Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Arg
85 90

<210> 5
<211> 8
<212> PRT
<213> ratón

```
<400> 5
Tyr Thr Phe Asp Met Gly Val Gly
1          5
```

$$\begin{aligned} \langle 210 \rangle & 6 \\ \langle 211 \rangle & 16 \end{aligned}$$

<212> PRT
<213> ratón

<400> 6
His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser
5 1 5 10 15

<210> 7
<211> 13
<212> PRT
10 <213> ratón

<400> 7
Val Arg Gly Leu His Asp Tyr Tyr Tyr Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

15 <210> 8
<211> 10
<212> PRT
<213> ratón

20 <400> 8
Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
1 5 10

25 <210> 9
<211> 7
<212> PRT
<213> ratón

30 <400> 9
Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

35 <210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> ratón

40 <400> 10
Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Phe Thr
1 5

45 <210> 11
<211> 14
<212> PRT
<213> ratón

50 <400> 11
Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala
1 5 10

55 <210> 12
<211> 15
<212> PRT
<213> ratón

<400> 12
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 13
<211> 116
<212> PRT
<213> ratón

ES 2 772 817 T3

<400> 13

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

Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Tyr Thr Phe Asp Met Gly Val Gly Trp
20 25 30

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

Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr
50 55 60

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

Val Asp Thr Ala Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Val Arg Gly
85 90 95

Leu His Asp Tyr Tyr Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser
115

<210> 14

<211> 94

<212> PRT

<213> ratón

<400> 14

Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser
1 5 10 15

Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys
20 25 30

Pro Trp Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg
35 40 45

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg
50 55 60

Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Trp Ser Arg
65 70 75 80

Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Arg
85 90

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213> ratón

<400> 15

Tyr Thr Phe Asp Met Gly Val Gly
1 5

<210> 16
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> ratón
 5
 <400> 16
 His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser
 1 5 10 15
 <210> 17
 10 <211> 13
 <212> PRT
 <213> ratón
 <400> 17
 Val Arg Gly Leu His Asp Tyr Tyr Tyr Trp Phe Ala Tyr
 15 1 5 10
 <210> 18
 <211> 10
 <212> PRT
 20 <213> ratón
 <400> 18
 Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
 1 5 10
 25 <210> 19
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> ratón
 30 <400> 19
 Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 20
 <211> 9
 35 <212> PRT
 <213> ratón
 <400> 20
 Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Phe Thr
 40 1 5
 <210> 21
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> ratón
 45 <400> 21

ES 2 772 817 T3

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

Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Tyr Thr Phe Asp Met Gly Val Gly Trp
20 25 30

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

Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Gly Leu Lys Ser Arg Leu Thr
50 55 60

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

Val Asp Thr Ala Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Arg Gly
85 90 95

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

Val Thr Val Ser
115

5 <210> 22
<211> 94
<212> PRT
<213> ratón

10 <400> 22
Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser
1 5 10 15

Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys
20 25 30

Pro Trp Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg
35 40 45

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg
50 55 60

Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Trp Ser Arg
65 70 75 80

Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Arg
85 90

15 <210> 23
<211> 8
<212> PRT
<213> ratón

<400> 23
Tyr Thr Phe Asp Met Gly Val Gly
1 5

20 <210> 24
<211> 16

<212> PRT
<213> ratón

<400> 24
Gln Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Gly Leu Lys Ser
5 1 5 10 15

<210> 25
<211> 13
<212> PRT
10 <213> ratón

<400> 25
Ile Arg Gly Leu Arg Asp Tyr Tyr Tyr Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

15 <210> 26
<211> 10
<212> PRT
<213> ratón

20 <400> 26
Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
1 5 10

<210> 27
<211> 7
25 <212> PRT
<213> ratón

<400> 27
Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

30 <210> 28
<211> 9
<212> PRT
<213> ratón

35 <400> 28
Gln Gln Trp Ser Arg Asn Pro Phe Thr
1 5

<210> 29
40 <211> 117
<212> PRT
<213> ratón

<400> 29
Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys
1 5 10 15

Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe Gly Leu Gly Val Gly Trp
20 25 30

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

ES 2 772 817 T3

Trp Asp Asp Asp Lys Ser Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr
50 55 60

Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu Met Ile Ala Asn
65 70 75 80

Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Gly Pro
85 90 95

Lys Trp Ser Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Cys Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser
115

<210> 30
<211> 94
<212> PRT
<213> ratón

<400> 30
Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser
1 5 10 15

Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys
20 25 30

Pro Tyr Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ser Ser Gly Val Pro Ala Arg
35 40 45

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg
50 55 60

Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser
65 70 75 80

Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
85 90

<210> 31
<211> 8
<212> PRT
<213> ratón

<400> 31
Ser Thr Phe Gly Leu Gly Val Gly
1 5

<210> 32
<211> 16
<212> PRT
<213> ratón

<400> 32
His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Ser Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 33
<211> 14
<212> PRT

<213> ratón

<400> 33
 Ile Gly Pro Lys Trp Ser Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Cys Asp Tyr
 1 5 10

5 <210> 34
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> ratón

10 <400> 34
 Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
 1 5 10

15 <210> 35
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> ratón

20 <400> 35
 Ala Thr Ser Asn Leu Ser Ser
 1 5

25 <210> 36
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> ratón

30 <400> 36
 Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr
 1 5

35 <210> 37
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> ratón

<400> 37
 Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys
 1 5 10 15
 Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe Gly Leu Gly Val Gly Trp
 20 25 30
 Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp
 35 40 45
 Trp Asp Asp Asp Lys Ser Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser Gln Leu Thr
 50 55 60
 Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Leu Leu Lys Ile Ala Asn
 65 70 75 80
 Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Gly Pro
 85 90 95
 Lys Trp Ser Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Cys Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Thr Leu Thr Val Ser
 115

ES 2 772 817 T3

<210> 38
 <211> 94
 <212> PRT
 5 <213> ratón

 <400> 38
 Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser
 1 5 10 15

 Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys
 20 25 30

 Pro Tyr Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ser Ser Gly Val Pro Ala Arg
 35 40 45

 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg
 50 55 60

 Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser
 65 70 75 80

 Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 85 90

 10 <210> 39
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> ratón

 15 <400> 39
 Ser Thr Phe Gly Leu Gly Val Gly
 1 5

 <210> 40
 <211> 16
 20 <212> PRT
 <213> ratón

 <400> 40
 His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Ser Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser
 1 5 10 15

 25 <210> 41
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> ratón

 30 <400> 41
 Ile Gly Pro Lys Trp Ser Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Cys Asp Tyr
 1 5 10

 <210> 42
 35 <211> 10
 <212> PRT
 <213> ratón

 <400> 42
 Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
 40 1 5 10

 <210> 43
 <211> 7

<212> PRT
<213> ratón

<400> 43
Ala Thr Ser Asn Leu Ser Ser
5 1 5

<210> 44
<211> 9
<212> PRT
10 <213> ratón

<400> 44
Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr
1 5

15 <210> 45
<211> 24
<212> ADN
<213> ratón

20 <400> 45
tacacttttg atatgggtgt aggc 24

<210> 46
<211> 48
25 <212> ADN
<213> ratón

<400> 46
cacatttggt gggatgatga taagtactat aaccagccc tgaagagt 48

30 <210> 47
<211> 40
<212> ADN
<213> ratón

35 <400> 47
gtaaggggcc tccatgatta ttactactgg tttgcttac 40

<210> 48
40 <211> 30
<212> ADN
<213> ratón

<400> 48
45 agggccagtt caagtgaag ttacatgcac 30

<210> 49
<211> 21
<212> ADN
50 <213> ratón

<400> 49
gccacatcca acctggcgtc t 21

55 <210> 50
<211> 27
<212> ADN
<213> ratón

60 <400> 50
cagcagtga gtcgaaaccc attcacg 27

<210> 51
<211> 348

ES 2 772 817 T3

	<212> ADN	
	<213> ratón	
	<400> 51	
5	tctggccctg ggatattgca gccctcccag accctcagtc tgacttggtc tttctctgga	60
	ttttcactgt acacttttga tatgggtgta ggctggattc gtcagccttc agggaagggt	120
	ctggagtggc tggcacacat ttggtgggat gatgataagt actataacct agccctgaag	180
	agtcggctca cagtctccaa ggatacctcc aaaaaccagg tcttcctcaa gatccccaat	240
	gtggacactg cagatagtgc cacatactac tgtgctcgag taaggggcct ccatgattat	300
	tactactggt ttgcttactg gggccaaggg actctgggtca ctgtctct	348
	<210> 52	
10	<211> 282	
	<212> ADN	
	<213> ratón	
	<400> 52	
	gcatctccag gggagaaggc cacaatgact tgcagggccca gttcaagtgt aagttacatg	60
	cactggtacc agcagaagcc aggatcctcc cccaaaccct ggatttatgc cacatccaac	120
	ctggcgctctg gagtccctgc tcgcttcagt ggcagtgggt ctgggacctc ttactctctc	180
	acaatcagca gagtggaggc tgaagatgct gccacttatt tctgccagca gtggagtcca	240
15	aaccattca cgttcggctc ggggacaaag ttggaataa ga	282
	<210> 53	
	<211> 24	
	<212> ADN	
20	<213> ratón	
	<400> 53	
	tacacttttg atatgggtgt aggc 24	
25	<210> 54	
	<211> 48	
	<212> ADN	
	<213> ratón	
30	<400> 54	
	cacatttgg ggatgatga taagtactat aaccagccc tgaagagt 48	
	<210> 55	
	<211> 39	
35	<212> ADN	
	<213> ratón	
	<400> 55	
40	gtaaggggcc tccatgatta ttactactgg ttgcttac 39	
	<210> 56	
	<211> 30	
	<212> ADN	
	<213> ratón	
45	<400> 56	
	agggccagt caagtgaag ttacatgcac	30
	<210> 57	
50	<211> 21	
	<212> ADN	

<213> ratón

<400> 57
gccacatcca acctggcgtc † 21

5 <210> 58
<211> 27
<212> ADN
<213> ratón

10 <400> 58
cagcagtggg gtcgaaaccc attcacg 27

15 <210> 59
<211> 348
<212> ADN
<213> ratón

<400> 59
tctggccctg ggatattgca gccctcccag accctcagtc tgacttggtc tttctctgga 60
ttttcactgt acacttttga tatgggtgta ggctggattc gtcagccttc aggggaagggt 120
ctggagtggc tggcacaaat ttggtgggat gatgataagt actataaccc aggcctgaag 180
agtcggctca caatctccaa ggatacctcc aaaaaccagg tattcctcaa gatccccaat 240
gtggacactg cagatagtgc cacatactac tgtgctcgaa taaggggcct ccgtgattat 300
20 tactactggg ttgcttactg gggccaaggg actctggtca ctgtctct 348

<210> 60
<211> 282
<212> ADN
25 <213> ratón

<400> 60
gcatctccag gggagaaggc cacaatgact tgcagggccca gctcaagtgt aagttacatg 60
cactgggtacc agcagaagcc aggatcctcc cccaaaccct ggatttatgc cacatccaac 120
ctggcttctg gactccctgc tcgcttcagt ggagtggtggt ctgggacctc ttactctctc 180
acaatcagca gactggaggc tgaagatgct gccacttatt tctgccagca gtggagtcga 240
aaccattca cgttcggctc ggggacaaag ttggaataa ga 282

30 <210> 61
<211> 24
<212> ADN
<213> ratón

35 <400> 61
tacacttttg atatgggtgt aggc 24

<210> 62
<211> 48
40 <212> ADN
<213> ratón

<400> 62
caaatttggg gggatgatga taagtactat aaccaggcc tgaagagt 48

45 <210> 63
<211> 39
<212> ADN
<213> ratón

ES 2 772 817 T3

	<400> 63 ataaggggcc tccgtgatta ttactactgg ttgcttac 39	
5	<210> 64 <211> 30 <212> ADN <213> ratón	
10	<400> 64 agggccagct caagtgaag ttacatgcac 30	
15	<210> 65 <211> 21 <212> ADN <213> ratón	
20	<400> 65 gccacatcca acctggcttc t 21	
25	<210> 66 <211> 27 <212> ADN <213> ratón	
30	<400> 66 cagcagtga gtcgaaaccc attcaag 27	
	<210> 67 <211> 351 <212> ADN <213> ratón	
	<400> 67 tctggccctg ggatattgca gccctcccag accctcagtc tgacttggtc tttctctggg 60	
	ttttcgctga gcacttttgg ttgggtgta ggctggattc gtcagccttc aggggaagggt 120	
	ctggagtggc tggcacacat ttggtgggat gatgataagt cctataaccc agccctgaag 180	
	agtcggctca caatctccaa ggatacctcc aaaaaccagg tcttcctcat gatcgccaat 240	
	gtggacactg cagatactgc cacatactac tgtgctcgaa tagggccgaa atggagcaac 300	
35	tactactact actgtgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc c 351	
40	<210> 68 <211> 282 <212> ADN <213> ratón	
	<400> 68 gcatctccag gggagaaggc cacaatgact tgcagggccca gctcaagtgt tagttacatg 60	
	cactggtacc agcagaagcc aggatcctcc cccaaaccct acatttatgc cacatccaac 120	
	ctgtcttctg gactccctgc tcgcttcagt ggcagtgggt ctgggacctc ttactctctc 180	
	acaatcagca gactggaggc tgaagatgct gccacttatt actgccagca gtggagtagt 240	
	aacccttca cgttcggctc ggggacaaaag ttggaataa aa 282	
45	<210> 69 <211> 24 <212> ADN <213> ratón	

ES 2 772 817 T3

<400> 69
 agcacttttg gtttgggtgt aggc 24

5 <210> 70
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> ratón

10 <400> 70
 cacatttggg gggatgatga taagtctat aaccagccc tgaagagt 48

15 <210> 71
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> ratón

<400> 71
 ataggcccgaa aatggagcaa ctactactac tactgtgact ac 42

20 <210> 72
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> ratón

25 <400> 72
 agggccagct caagtgttag ttacatgcac 30

30 <210> 73
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> ratón

35 <400> 73
 gccacatcca acctgtcttc t 21

40 <210> 74
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> ratón

<400> 74
 cagcagtga gtagtaacc cttcacg 27

45 <210> 75
 <211> 351
 <212> ADN
 <213> ratón

<400> 75
 tctggccctg ggatattgca gccctcccag accctcagtc tgacttggtc tttctctggg 60
 ttttcgctga gcacttttgg tttgggtgta ggctggattc gtcagccttc agggaagggt 120
 ctggagtggc tggcacacat ttggtgggat gatgataagt cctataacc agccctgaag 180
 agtcagctca caatctccaa ggatacctcc aaaaaccagg tactcctcaa gatcgccaat 240
 gtggacactg cagatactgc cacatactac tgtgtctgaa taggcccga atggagcaac 300
 50 tactactact actgtgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc c 351

55 <210> 76
 <211> 282
 <212> ADN
 <213> ratón

ES 2 772 817 T3

<400> 76
 gcatctccag gggagaaggt cacaatgact tgcagggccca gctcaagtgt tagttacatg 60
 cactggtacc agcagaagcc aggatcctcc cccaaaccct acatttatgc cacatccaac 120
 ctgtcttctg gagtccctgc tcgcttcagt ggcagtgggt ctgggacctc ttactctctc 180
 acaatcagca gagtggaggc tgaagatgct gccacttatt actgccagca gtggagtagt 240
 aacccttca cgttcggctc ggggacaaag ttggaataa aa 282
 <210> 77
 5 <211> 24
 <212> ADN
 <213> ratón
 <400> 77
 10 agcactttg gttgggtgt aggc 24
 <210> 78
 <211> 48
 <212> ADN
 15 <213> ratón
 <400> 78
 cacatttgg gggatgatga taagtctat aaccagccc tgaagagt 48
 20 <210> 79
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> ratón
 25 <400> 79
 ataggcccga aatggagcaa ctactactac tactgtgact ac 42
 <210> 80
 <211> 30
 30 <212> ADN
 <213> ratón
 <400> 80
 35 agggccagct caagtgttag ttacatgcac 30
 <210> 81
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> ratón
 40 <400> 81
 gccacatcca acctgtctt t 21
 <210> 82
 <211> 27
 45 <212> ADN
 <213> ratón
 <400> 82
 50 cagcagtgga gtagtaacc cttcacg 27
 <210> 83
 <211> 23
 <212> PRT
 55 <213> ratón
 <400> 83

ES 2 772 817 T3

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

Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu
20

<210> 84
<211> 11
5 <212> PRT
<213> ratón

<400> 84
Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
1 5 10

10 <210> 85
<211> 32
<212> PRT
<213> ratón

15 <400> 85
Arg Leu Thr Val Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu Lys
1 5 10 15

Ile Pro Asn Val Asp Thr Ala Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

20 <210> 86
<211> 32
<212> PRT
<213> ratón

<400> 86
Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser
1 5 10 15

25 Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys
20 25 30

30 <210> 87
<211> 23
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> secuencia humano-ratón

35 <400> 87
Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys
1 5 10 15

Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu
20

40 <210> 88
<211> 11
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> secuencia humano-ratón

45 <400> 88

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10
 <210> 89
 <211> 32
 5 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> secuencia humano-ratón
 10 <400> 89
 Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu Thr
 1 5 10 15
 Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30
 15 <210> 90
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 20 <223> secuencia humano-ratón
 <400> 90
 Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys
 20 25 30
 25

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende:

un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene entre un 85% y el 100% de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 3 y un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene entre un 85% y el 100% de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 4,

donde el anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo, se une a Globo H, y puede reaccionar de forma cruzada con un antígeno de carbohidrato asociado a tumor seleccionado entre sLe^x, sTn, Tn, sLe^a, α-NeuAc-OCH₂C₆H₄-p-NHCOOCH₂, Fucα1-2Galβ1-4GalNAcβ, NeuAca2-6Galb, Gala1-3Galb1-4GlaNAcb, (NeuAca2-8)₃, 6Gal-HSO₃-SiaLex, 6GluNAc-HSO₃-SiaLex, N-glicano diantenario α2-6 sialilado o ácido polisialílico.

2. Un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, de la reivindicación 1, que comprende:

un dominio variable de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 3, y un dominio variable de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 4.

3. Un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende:

una primera región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR1) que tiene la secuencia de aminoácidos que es idéntica entre un 90% y el 100% a la SEQ ID NO: 5,

una segunda región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR2) que tiene la secuencia de aminoácidos que es idéntica entre un 90% y el 100% a la SEQ ID NO: 6 o la SEQ ID NO: 24,

una tercera región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR3) que tiene la secuencia de aminoácidos que es idéntica entre un 90% y el 100% a la SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 25,

una primera región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR1) que tiene la secuencia de aminoácidos que es idéntica entre un 90% y el 100% a la SEQ ID NO: 8,

una segunda región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR2) que tiene la secuencia de aminoácidos que es idéntica entre un 90% y el 100% a la SEQ ID NO: 9, y

una tercera región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR3) que tiene la secuencia de aminoácidos que es idéntica entre un 90% y el 100% a la SEQ ID NO: 10,

donde el anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo, se une a Globo H y puede reaccionar de forma cruzada con un antígeno de carbohidrato asociado a tumor seleccionado entre sLe^x, sTn, Tn, sLe^a, α-NeuAc-OCH₂C₆H₄-p-NHCOOCH₂, Fucα1-2Galβ1-4GalNAcβ, NeuAca2-6Galb, Gala1-3Galb1-4GlaNAcb, (NeuAca2-8)₃, 6Gal-HSO₃-SiaLex, 6GluNAc-HSO₃-SiaLex, N-glicano diantenario α2-6 sialilado o ácido polisialílico.

4. El anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, de la reivindicación 3, que además comprende una estructura que tiene una identidad entre el 80% y el 100% con la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 11, donde la estructura está entre la HCDR1 y la HCDR2, y

una estructura que tiene una identidad entre el 80% y el 100% con la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 12, donde la estructura está entre la LCDR1 y la LCDR2.

5. El anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, de la reivindicación 3, que comprende:

(a) una estructura entre dicha HCDR1 y dicha HCDR2 que tiene una identidad entre el 80% y el 100% con la SEQ ID NO: 11, donde la estructura contiene glicina en la posición 9, y

(b) una estructura entre dicha LCDR1 y dicha LCDR2 que tiene una identidad entre el 80% y el 100% con la SEQ ID NO: 12, donde la estructura contiene prolina en la posición 12 y/o triptófano en la posición 13

donde el anticuerpo, o la porción de unión a antígeno del mismo, se une a Globo H.

6. El anticuerpo, o la porción de unión a antígeno del mismo, de la reivindicación 3, donde

la HCDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;

la HCDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6;

la HCDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7;

la LCDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8;

la LCDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; y

la LCDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10.

7. El anticuerpo, o la porción de unión a antígeno del mismo, de la reivindicación 3, donde

la HCDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;

5 la HCDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24;

la HCDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25;

la LCDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8;

la LCDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; y

la LCDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10.

10 8. Un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende:

un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene entre un 85% y el 100% de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 21 y un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene entre un 85% y el 100% de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 22,

15 donde el anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo, se une a Globo H, y puede reaccionar de forma cruzada con un antígeno de carbohidrato asociado a tumor seleccionado entre sLe^x, sTn, Tn, sLe^a, α-NeuAc-OCH₂C₆H₄-p-NHCOOCH₂, Fuca1-2Galβ1-4GalNAcβ, NeuAca2-6Galb, Gala1-3Galb1-4GlaNAcb, (NeuAca2-8)₃, 6Gal-HSO₃-SiaLex, 6GluNAc-HSO₃-SiaLex, N-glicano diantenario α2-6 sialilado o ácido polisialílico.

9. El anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, de la reivindicación 8, que comprende:

20 un dominio variable de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 21, y un dominio variable de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 22.

10. Un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, producido por el hibridoma designado como 2C2 depositado con el Número de Acceso de ATCC PTA-121138; 3D7 depositado con el Número de Acceso de ATCC PTA-121310, o 7A11 depositado con el Número de Acceso de ATCC PTA-121311,

25 donde el anticuerpo, o la porción de unión a antígeno del mismo, se une a un antígeno de carbohidrato.

11. Un anticuerpo humanizado, o una porción de unión a antígeno del mismo, que comprende:

(a) una región de cadena pesada, donde la región de cadena pesada comprende tres CDRs, HCDR1, HCDR2 y HCDR3, que tienen secuencias de aminoácidos idénticas entre un 90% y el 100% a las secuencias de aminoácidos establecidas en las SEQ ID NOs: 5, 6 y 7, respectivamente;

30 una estructura entre una secuencia líder y dicha HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos idéntica entre un 80% y el 100% a la SEQ ID NO: 87; y

una estructura entre dicha HCDR2 y dicha HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos idéntica entre un 80% y el 100% a la SEQ ID NO: 89, y

35 (b) una región de cadena ligera, donde la región de cadena ligera comprende tres CDRs, LCDR1, LCDR2 y LCDR3, que tiene las secuencias de aminoácido idénticas entre un 90% y el 100% a las secuencias de aminoácidos establecidas en las SEQ ID NO: 8, 9 y 10, respectivamente; y

una estructura entre una secuencia líder y dicha LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos idéntica entre un 80% y el 100% a la SEQ ID NO: 88, y

40 una estructura entre dicha LCDR2 y dicha LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos idéntica entre un 80% y el 100% a la SEQ ID NO: 90,

donde el anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo, se une a Globo H, y puede reaccionar de forma cruzada con un antígeno de carbohidrato asociado a tumor seleccionado entre sLe^x, sTn, Tn, sLe^a, α-NeuAc-OCH₂C₆H₄-p-NHCOOCH₂, Fuca1-2Galβ1-4GalNAcβ, NeuAca2-6Galb, Gala1-3Galb1-4GlaNAcb, (NeuAca2-8)₃, 6Gal-HSO₃-SiaLex, 6GluNAc-HSO₃-SiaLex, N-glicano diantenario α2-6 sialilado o ácido polisialílico.

12. El anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo de las reivindicaciones 1-11, donde el anticuerpo o la porción de unión a antígeno del mismo se selecciona entre: (a) una molécula completa de inmunoglobulina; (b) un scFv; (c) un fragmento Fab; (d) un F(ab')₂ o (e) un Fv ligado por disulfuro.

13. Una composición farmacéutica, que comprende:

5 un anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12; y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

14. El anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, para uso en el tratamiento de un cáncer en un humano.

10 **15.** El anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, para uso según la reivindicación 14, donde el cáncer es cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer gástrico, cáncer de ovario, cáncer endometrial, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer nasofaríngeo, cáncer de piel, cáncer oral, cáncer renal, cáncer de cerebro, cáncer cervical o cáncer de vejiga.

16. Un hibridoma designado como 2C2 depositado con el Número de Acceso de ATCC PTA-121138; 3D7 depositado con el Número de Acceso de ATCC PTA-121310, o 7A11 depositado con el Número de Acceso de ATCC PTA-121311.

15

Fig. 1

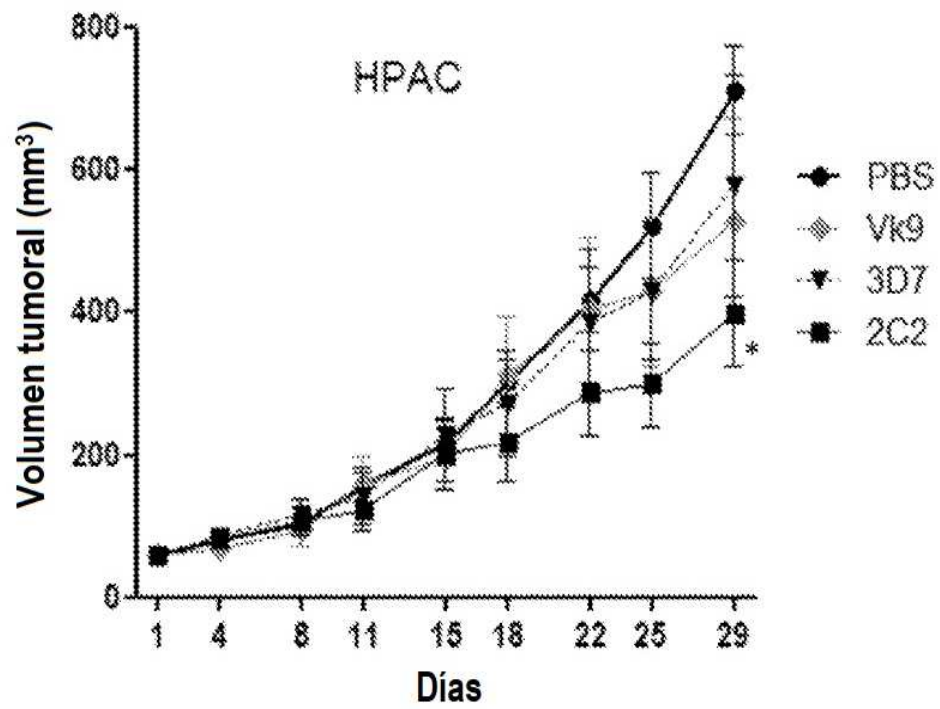


Fig. 2

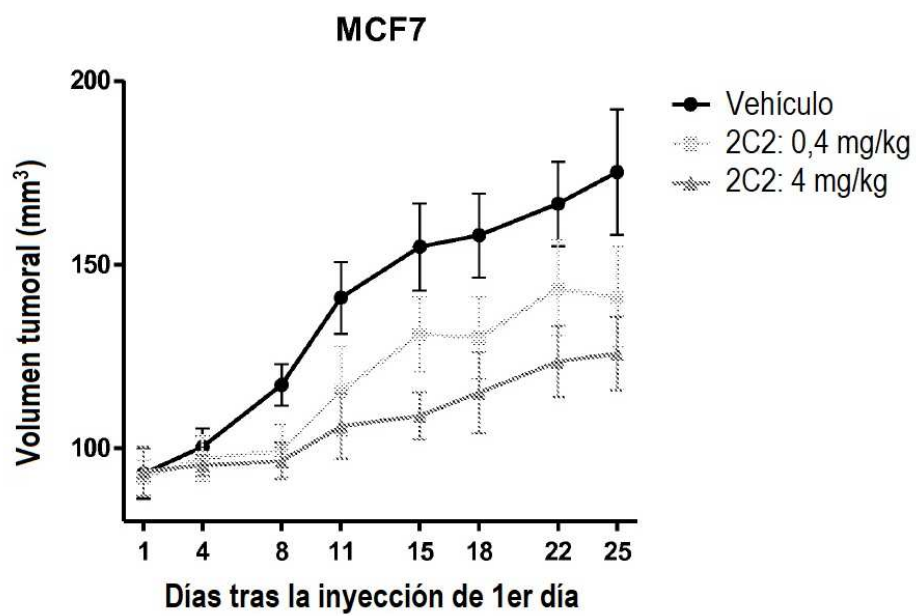


Fig. 3A

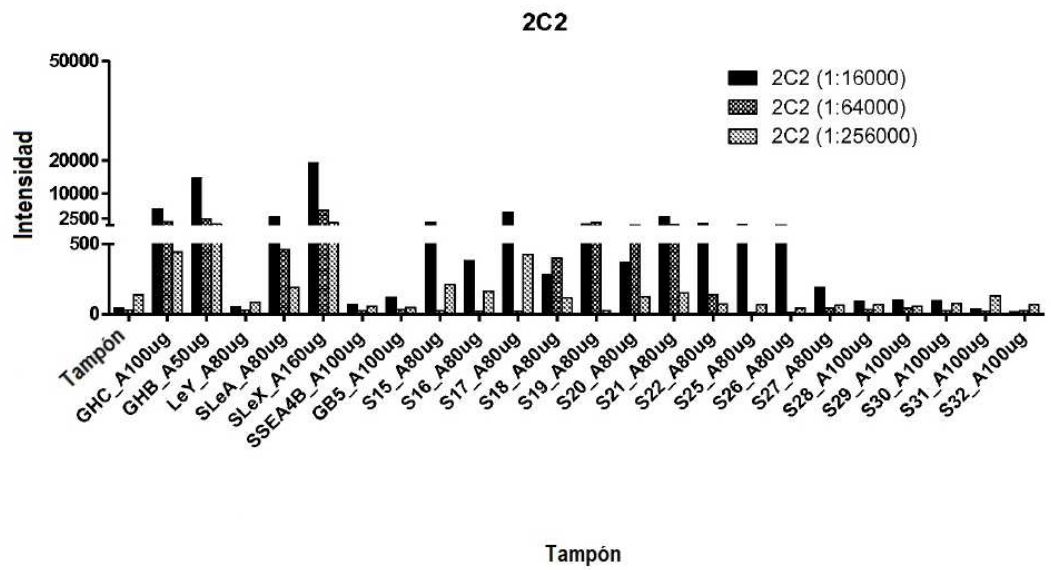


Fig. 3B

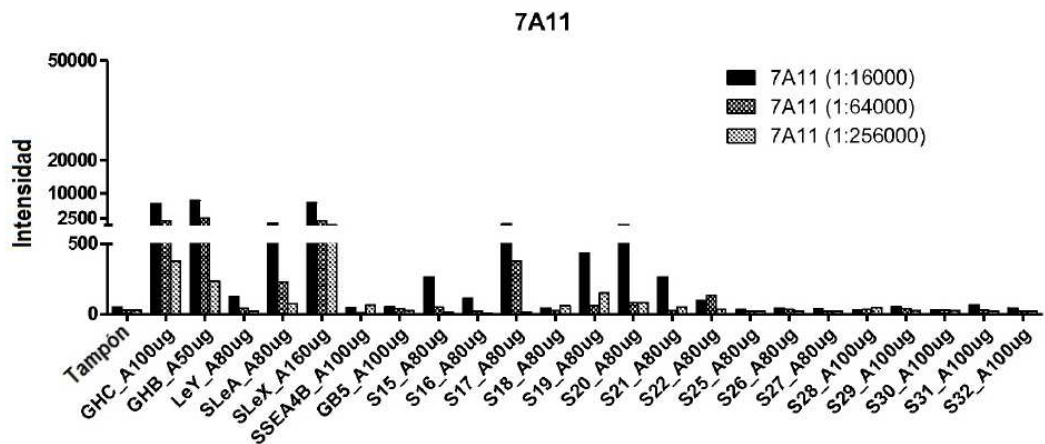


Fig. 3C

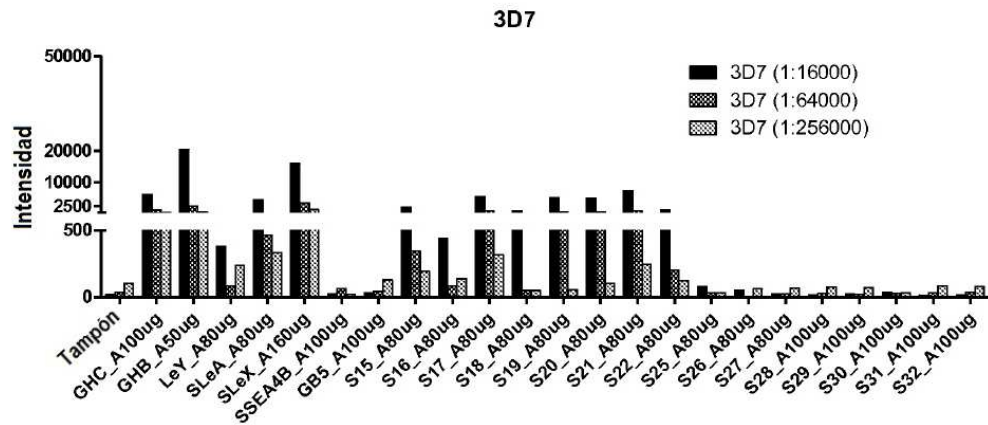


Fig. 3D

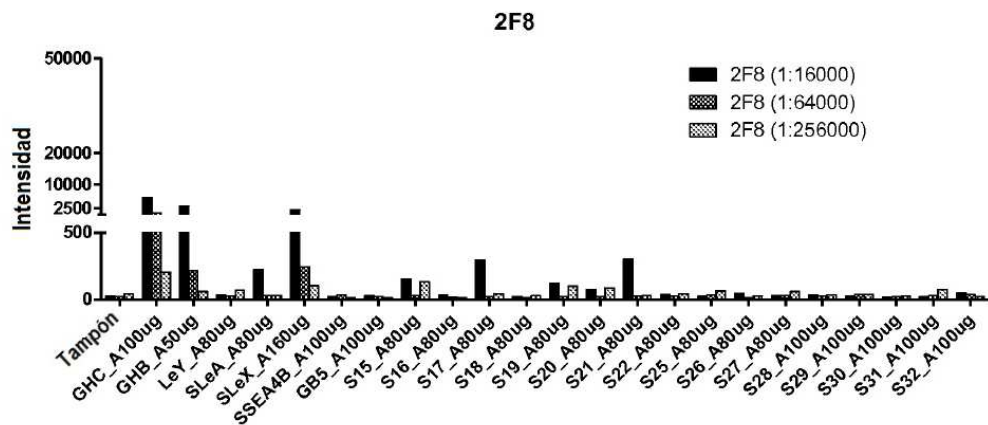


Fig. 3E

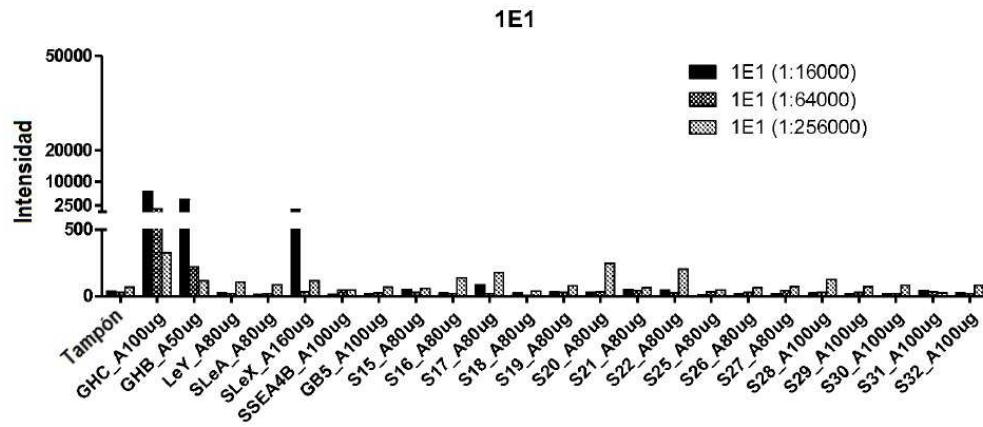


Fig. 3F

