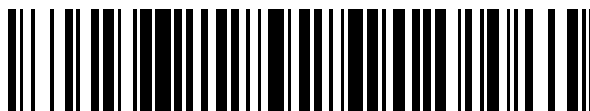


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 784 271**

51 Int. Cl.:

C07K 16/40 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.08.2015 PCT/EP2015/068645**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.02.2016 WO16023979**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.08.2015 E 15749818 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.02.2020 EP 3180362**

54 Título: **Anticuerpos específicos para mmp9**

30 Prioridad:

13.08.2014 EP 14180765

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.09.2020

73 Titular/es:

CALYPSO BIOTECH SA (50.0%)

Chemin des Aulx, 14

1228 Plan-les-Ouates, CH y

MERCK PATENT GMBH (50.0%)

72 Inventor/es:

CHVATCHKO MISSOTTEN, YOLANDE;

GOFFIN, LAURENCE;

LEGER, OLIVIER;

DUNN, STEVEN M.;

POWER, CHRISTINE y

MAUNDRELL, KINSEY

74 Agente/Representante:

LÓPEZ CAMBA, María Emilia

ES 2 784 271 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 específicos para mmp9

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a los anticuerpos y fragmentos de éstos que se unen específicamente y neutralizan la actividad de dicha proteína, así como a los usos de éstos como agentes terapéuticos o de diagnóstico.

Antecedente de la invención

- 10 La familia de la metaloproteínasa de matriz (MMP) consiste en al menos 23 endopeptidasas dependientes de zinc, estructuralmente relacionadas, solubles o unidas a la membrana, que están ampliamente implicadas en la remodelación de la matriz extracelular (ECM) y en la regulación funcional de diversas moléculas bioactivas.

- 15 Todas las MMP poseen una estructura prototipo que incluye un pro-dominio que mantiene la MMP en una forma inactiva y un dominio catalítico que actúa sobre un amplio espectro de componentes de la matriz extracelular.

- La metalopeptidasa de matriz 9 (MMP9), también conocida como colagenasa tipo IV de 92 kDa o gelatinasa B (GELB), es un miembro de las enzimas de la familia MMP responsable de la degradación de colágenos desnaturalizados y de la membrana basal (*Agrawal et al., 2006 J. Exp. Med. 203, 1007-1019*) y para promover la inflamación mediante el procesamiento de proteínas solubles, incluyendo inhibidores de proteasa (*Liu et al., 2000, J. Exp. Med. 188, 475-482*), quimiocinas (*Van den Steen et al., 2000, Lancet Neurol. 2, 747-756*), y citocinas (*Nelissen et al, 2003, Brain 126, 1371-1381*). Las MMP9 también controlan la migración, invasión y metástasis de células tumores mediante proteólisis de moléculas unidas a la membrana, como los precursores y receptores del factor de crecimiento, receptores de tirosina cinasa (TKR), moléculas de adhesión celular (*Bauvois, 2012, Biochim Biophys Acta. 1825(1):29-36*). En la enfermedad, la MMP9 es secretada por muchos tipos de células que incluyen leucocitos, p. ej., neutrófilos, monocitos/macrófagos y linfocitos, así como fibroblastos, miofibroblastos, células epiteliales, células de músculo liso, células endoteliales, osteoclastos y células tumorales (*Vandoooren et al, 2013, Crit. Rev. Biochem. Mol Biol 48(3):222-72*).
- 20
- 25

- 30 La estructura de dominio general de MMP9 comprende una secuencia líder secretora, un pro-dominio inhibitorio requerido para la latencia catalítica, un dominio catalítico 'dividido' que contiene tres bucles de repetición similares a fibronectina tipo II que juntos forman un dominio de unión al colágeno (CBD), un ligador rico en prolina hiperglicosilada (también mencionada como el dominio OG), y un dominio C-terminal similar a hemopexina (PEX).

- 35 La metalopeptidasa de matriz 2 (MMP2), también conocida como colagenasa tipo IV de 72 kDa o gelatinasa A (GELA), es una enzima que pertenece a la misma familia que la MMP9. La MMP2 y MMP9 presentan alta identidad de la secuencia de aminoácidos (45.9% en la proteína de longitud completa y 63.2% en el dominio catalítico) y comparten estructura 3D altamente similar, especialmente en su dominio catalítico. Por tanto, es muy difícil identificar anticuerpos inhibidores de anti-MMP9 humana, selectivos frente a la MMP2 humana debido a su alta homología estructural y secuencia de aminoácidos (*Morgunova et al, 1999, Science, 284: 1667-1670*).
- 40

- Muchos estados de la enfermedad inflamatoria aguda y autoinmune, estados fibróticos y cáncer invasivo, se asocian con la presencia de MMP9 en exceso (*Hu et al, 2007, Nature Reviews Drug Discovery, 6, 480-498*; *Ram et al, 2006, J. Clin. Immunol., (26)4: 299-307*; *Ai Zheng, 2003, Chinese journal of cancer, 22(2): 178-84*; *Baugh et al, 1999, Gastroenterology, 117:814-822*; *Santos et al, 2013, Biochem Biophys Res Commun., 438(4): 760-4*); *Herszenyi et al, 2012, Int. J. Mol. Sci, 13, 13240-13263*; *Lijnen, 2001, Thromb Haemost, 86: 324-33*; *Rosell et al., 2005, Stroke 36: 1415-20*; *Whatling et al., 2004, Arterioscler Thromb Vase Biol., 24: 10-11*; *Yasmin et al., 2005, Arterioscler Thromb Vase Biol., 25:372-8*; *Vassiliadis et al., 2011, BMC Dermatol., 11: 6*), y por tanto, esta enzima ha recibido atención considerable como un objetivo prospectivo para la intervención terapéutica.
- 45
- 50

- La fuerte evidencia clínica y experimental demuestra la asociación de niveles elevados de MMP9 con la progresión de cáncer, metástasis y supervivencia disminuida del paciente, ya que desempeña una función clave en la invasión de células tumorales y metástasis mediante la digestión de la membrana basal y los componentes de la matriz extracelular. La lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL), que está unida covalentemente a MMP9 en neutrófilos humanos (*Triebel et al., 1992, FEBS Lett., 314, 386-388*), protege a la MMP9 contra la degradación proteolítica, y aumenta la actividad enzimática de la MMP9 y posteriormente mejora la invasividad y difusión tumoral (*Yan et al., 2001, J. Biol. Chem., 276, 37258-37265*). Las altas concentraciones del complejo MMP9/NGAL en suero se han asociado con una supervivencia libre de progresión más corta, y de la deficiente supervivencia en general en carcinoma de células renales, las células claras (*Perrin et al., 2011, Prog. En Urol. J. Assoc. Fr. Urol. Societe Fr. Urol, 21, 851-858*).
- 55
- 60

- Específicamente la función de la MMP-9 ha estado asociada con cáncer colorrectal (*Herszenyi et al, 2012, Int J Mol Sci., 13(10): 13240-63*), cáncer pancreático (*Gao et al, 2015, Med Oncol. 32(1): 418*), cáncer de mama (*Kim et al, 2014, BMC Cancer. 14(1):959*), cáncer de pulmón (*Ruiz-Morales et al, Tumour Biol. 36(5):3601-10*), cáncer de ovario (*Naylor et al, 1994, Int J Cancer, 58: 50-6*), cáncer de vejiga urinaria (*Szarvas et al, 2011, Nat Rev Urol, 8(5): 241-54*) y cáncer gástrico (*Chen et al, 2015, Int J Clin Exp Med. 8(1): 546-57*).
- 65

La función de la MMP9 ha sido demostrada en patologías inmunes y particularmente en enfermedad inflamatoria del intestino (IBD) en donde se ha reportado a la MMP9 como la MMP más abundantemente expresada en la mucosa del intestino activamente inflamada, y su expresión se correlaciona bien con la actividad de la enfermedad (Naito and Yoshikawa, 2005, 26:379-390). En cuanto a la IBD, se piensa que la MMP9 desempeña una función clave en la remodelación inadecuada del tejido y activación de citocinas y quimiocinas proinflamatorias, permitiendo con ello el reclutamiento de leucocitos activados (Nuala et al, 2014, *Inflamm. Bowel Dis.* 0:1-15). Más específicamente, la expresión mejorada de la MMP9 a lo largo de los tractos de fístula de fístulas perianales y el aumento de la actividad de la MMP9 en biopsias de fístula se reportó en pacientes con enfermedad de Crohn (CD), sustentando la hipótesis de que la MMP9 puede contribuir a la formación de fístulas que representen una complicación grave de la CD (Efsen, et al, 2011, *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 109(3):208-16). Además, la disminución de los niveles séricos de NGAL/MMP9 también se correlaciona con la curación de la mucosa en pacientes con colitis ulcerosa tratados con infliximab (de Bruyn et al, 2014, *Inflamm. Bowel Dis.*, 20, 1198-1207).

La función de la MMP9 ha sido asociada con diversos trastornos neurológicos, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer (Mroczo et al, 2013, *J. Alzheimers Dis.*, 37(2): 273-278), esclerosis múltiple (Mirshafiey et al, 2014, *Sultan Qaboos Univ Med J.*, 14(1), 13-25), neuro inflamación o isquemia cerebral (Candelario-Jalil et al, 2009, *Neuroscience* 158(3):983-94). En la enfermedad de Alzheimer la influencia proagregatoria en la formación de oligómeros tau en regiones estratégicas del cerebro puede ser un posible efecto secundario neurotóxico de la MMP9 (Wang et al, 2014 *BioMed Res. Int.*, 2014, ID 908636: 1-8). Se ha sugerido que una reducción en el factor de crecimiento nervioso maduro (mNGF) como consecuencia de la elevada degradación mediada por MMP9, que degrada mNGF en el espacio extracelular puede, en parte, justificar la patogénesis de déficits cognitivos en el deterioro cognitivo leve y la enfermedad de Alzheimer (Bruno et al, 2009, *J Neuropathol. Exp. Neurol.*, 68(12): 1309-1318).

La función de la MMP9 ha sido asociada con enfermedades fibróticas, por ejemplo, esclerosis sistémica, fibroesclerosis multifocal, enfermedad esclerodermatosa de injerto contra huésped en receptores de trasplante de médula ósea, fibrosis sistémica nefrogénica, así como trastornos específicos de órganos, como pueden ser la fibrosis pulmonar, hepática y renal (Piera-Velazquez et al, 2011, *Am J Pathol*, 179(3): 1074-80, Peng et al, 2012, *J. Clin. Immunol*, 32(6): 1409-14). Por ejemplo, estudios recientes han mostrado que las MMP, en particular la MMP9, están implicadas en el inicio y progresión de fibrosis renal a través de la transición de las células epiteliales tubulares-mesénquima y la activación de fibroblastos residentes, la transición de células epiteliales-mesénquima y la transdiferenciación pericito-miofibroblasto (Zhao et al, 2013, *World J Nephrol*, 2(3):84-9).

La fisiopatología de diversas enfermedades oculares ha sido asociada con la actividad de la MMP9. Algunos ejemplos incluyen: patologías fibróticas de la lente (Nathu et al, 2009, *Ex. Eye Res.*, 88(2): 323-330), enfermedades corneales que están asociadas con la regulación positiva de MMP9 (Sakimoto et al, 2012, *Cornea* 31, *Suppl 1*:S50-6), retinopatía diabética que presenta niveles aumentados de MMP9 en pacientes con trastornos de la retina y el humor vítreo (Kowluru et al, 2012, *Expert Opin Investig Drugs*, 21(6): 797-805) y degeneración macular relacionada con la edad, en la que se demostró que la MMP9 desempeña una función en su patogénesis (Nita et al, 2014, *Med Sci Monit*, 20:1003-16).

Las enfermedades cardiovasculares involucran inflamación y remodelación alterada de tejido asociada con la reorganización de la matriz extracelular y la activación de la MMP9. Por tanto, se piensa que la MMP9 está asociada con la fisiopatología de enfermedades cardíacas tales como hipertensión, aterosclerosis, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca y enfermedad de arteria coronaria (Yabluchanskiy et al, 2013, *Physiology*, 28(6):391-403).

Además, la función de la MMP9 ha sido asociada con diversos grupos de trastornos tales como enfermedades de la piel (Mezentsev et al., 2014, *Gene*, 540(1): 1-10), sepsis y síndrome de shock inflamatorio agudo (Lorento et al, 2014, *PLoS One* 9(4):e94318; Qui et al. 2012, *Comb Chem High Throughput Screen.*, 15(7):555-70), osteoartritis (Bian et al, 2012, *Front Biosci (Elite Ed)*. 4: 74-100), mucositis inducida por quimioterapia (Al-Dasooqi et al, 2009, *Cancer Chemother Pharmacol*, 64: 1-9), enfermedades orales (Al-Azri et al, 2013, *Oral Diseases*, 19: 347-359), osteosclerosis (Teti et al, 1999, *J Bone Miner Res.* 14(12):2107-17), endometriosis (Pitsos et al, 2009, *Reprod Sci*, 16(8) : 717-26) o enfermedad de Chagas (Geurts et al, 2012, *Pharmacol Ther.*, 133(3):257-79).

Se han identificado ambas formas, monoméricas y diméricas, de MMP9 en una variedad de células normales y tumorales (Goldberg et al, 1992, *J. Biol. Chem.*, 267, 4583-4591) y en fluidos y tejidos biológicos, lo que indica que ambas formas son fisiológicamente importantes. Además de la proteólisis, parece ser necesaria la dimerización de MMP9 a través del dominio hemopexina para la mejor migración celular de MMP9 (Dufour et al, 2010, *J. Biol Chem.*, 285, 35944-35956), y el estudio de los patrones de secreción del monómero y dímero de MMP9 en una variedad de líneas celulares de carcinoma, sarcoma, adenocarcinoma y leucemia reveló que altos niveles de MMP9, y especialmente dímeros, se correlacionan con las líneas celulares de cáncer más agresivas (Roomi et al, 2014, *Int. J. Oncol.* 44, 986-992). En conjunto, estas observaciones destacan la importancia de un agente neutralizador de MMP9 eficaz para inhibir eficientemente todas las formas naturales de MMP9, y más concretamente, el dímero de MMP9 y el complejo NGAL/MMP9 para tratar cánceres metastásicos muy agresivos.

Históricamente, las estrategias para el bloqueo de MMP se han centrado en el diseño de inhibidores de moléculas pequeñas que interactúen íntimamente con el sitio catalítico de la enzima activada. A la fecha este enfoque no ha podido traducirse en el beneficio clínico esperado, debido en parte a la toxicidad limitadora de la dosis y a los efectos secundarios graves, tales como el síndrome musculoesquelético. Dado que la arquitectura del sitio catalítico de MMP9 está altamente conservada en toda la familia de las MMP, esta contra-indicación puede ser atribuible a la falta de la selectividad diana de las MMP a dosis terapéuticas.

Es probable que los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos interactúen con, y ocluyan, una porción mucho mayor de la estructura de la MMP9 que las moléculas pequeñas dirigidas al sitio activo, proporcionando una mayor selectividad inhibitoria diana.

En la técnica anterior se han descrito algunos anticuerpos específicos para MMP9, tales como AB0041 de ratón (documento WO 2012/027721) y AB0045 humanizado (documento WO 2013/130078), así como 539A-M0240-B03 humano (documentos US 2009/0311245; WO 2009/111450; WO 2010/045388), M0166-F10 (documentos US 2009/0311245; US 2011/0135573; WO 2009/111450; WO 2010/045388), 539A-M0237-D02 (documentos US 2009/0297449 y US 2011/0135573), M0279-A03 (documento WO 2010/045388) REGA-3G12 de ratón (documento WO 02/066057; Martens et al., 2007, Biochim. Biophys. Acta 1770, 178-186). Se ha descrito que algunos de los anticuerpos de la técnica anterior se unen tanto a MMP9 como a MMP2. El documento WO 2011/028883 describe anticuerpos anti-MMP9 que son específicos solo para MMP9.

Por tanto, sigue existiendo la necesidad de desarrollar nuevos agentes terapéuticos que muestren una alta afinidad y especificidad para MMP9 y presenten una afinidad débil o limitada y/o especificidad a otras MMP como MMP2, que muestren reactividad cruzada mejorada a ortólogos de MMP9 no humanos y posean otras propiedades adicionales, tales como inmunogenicidad reducida en humanos, y/o mayor estabilidad, que los haga particularmente adecuados para aplicaciones terapéuticas en humanos.

Breve descripción de la invención

La presente invención se dirige a las proteínas que se unen a MMP9, en particular MMP9 humana, y comprenden al menos un fragmento de una región variable de la cadena pesada y/o al menos un fragmento de una región variable de la cadena ligera de un anticuerpo, como se describe en la presente.

Un primer aspecto de la invención se refiere a un anticuerpo aislado específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste, en donde dicho anticuerpo o fragmento se une a MMP9 mediante la interacción con un epítipo que comprende al menos un aminoácido dentro de una región que comprende la ID SEC NO: 41, al menos un aminoácido dentro de una región que comprende la ID DEC NO: 42, y al menos un aminoácido dentro de una región que comprende la ID SEC NO: 43, en donde dichas regiones están dentro del dominio catalítico de MMP9 humana.

Un segundo aspecto de la invención proporciona un anticuerpo aislado específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 11 o una variante de la ID SEC NO: 11, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones: N53Q, N53R, N53K, N53H, D61E, S62T, M100LI, D84A y V89L. La ID SEC NO: 11 como se ha definido aquí anteriormente comprende:

- (i) una CDR1 de la cadena pesada de ID SEC NO: 2
- (ii) una CDR2 de la cadena pesada de ID SEC NO: 3
- (iii) una CDR3 de la cadena pesada de ID SEC NO: 4

Un aspecto más específico de la invención proporciona un anticuerpo aislado, como ya se describió, que además comprende una región variable de la cadena ligera seleccionada del siguiente grupo:

- (1) la ID SEC NO: 24, o una variante de la ID SEC NO: 24 con la sustitución V104L;
- (2) la ID SEC NO: 67, o una variante de la ID SEC NO: 67, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones: V46L, V71A y V104L;
- (3) la ID SEC NO: 29, o una variante de la ID SEC NO: 29, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones: R8A, V19I, L47M, T60N, L79Q, y A81E; y
- (4) la ID SEC NO: 69, o una variante de la ID SEC NO: 69, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones: R8A, V19I, L47M, T60N, L79Q, A81E y F86Y.

La ID SEC NO: 24 y la ID SEC NO: 67 como se han definido anteriormente comprenden:

- (i) una CDR1 de la cadena ligera de ID SEC NO: 21
- (ii) una CDR2 de la cadena ligera de ID SEC NO: 22
- (iii) una CDR3 de la cadena ligera de ID SEC NO: 23 ácida

La ID SEC NO: 29 y la ID SEC NO: 69 como se han definido anteriormente comprenden:

- 5 (i) una CDR1 de la cadena ligera de ID SEC NO: 26
 (ii) una CDR2 de la cadena ligera de ID SEC NO: 27
 (iii) una CDR3 de la cadena ligera de ID SEC NO: 28

Un tercer aspecto de la invención se refiere a una molécula de ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de éste como se describe en la presente.

10 Un cuarto y quinto aspectos de la invención se refieren a un vector de expresión recombinante que comprende dicha molécula de ácido nucleico, y una célula huésped que comprende dicho vector recombinante, respectivamente.

15 Un sexto aspecto de la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende uno o más de lo siguiente: (i) un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste, (ii) una secuencia de ácido nucleico, (iii) un vector y/o (iv) una célula huésped, como se describe en la presente, y al menos un portador farmacéutico aceptable.

20 Un séptimo aspecto de la invención se refiere a un anticuerpo o formulación de éste, de acuerdo con la invención, para uso en la prevención y/o tratamiento de un trastorno relacionado con MMP9, como puede ser una enfermedad inflamatoria y/o autoinmune, o un cáncer o tumor, o una enfermedad fibrótica.

Otro aspecto de la invención se refiere a un anticuerpo anti-MMP-9 de la invención, o una formulación de éste, para uso como medicamento.

25 Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada.

Descripción de las figuras

30 La Figura 1 muestra un diagrama esquemático de la estructura del dominio molecular de la proteína MMP9 humana. Los números indican las posiciones de los aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de la proteína MMP9 inmadura.

35 La Figura 2 muestra la alineación de las secuencias de aminoácidos de MMP9 humana, de mono Cynomologus (cyno), rata y ratón. El (*) indica las posiciones que tienen un único residuo totalmente conservado, (:) indica la conservación entre grupos de propiedades fuertemente similares – con puntuación > 0.5 en la matriz Gonnet PAM 250, (.) indica la conservación entre grupos de propiedades débilmente similares – con puntuación < 0.5 en la matriz Gonnet PAM 250.

40 La Figura 3 muestra la alineación de las secuencias de fragmentos de anticuerpos de la cadena pesada humana, ejemplares, que comprende la región constante de la cadena pesada humana y la región variable de la cadena pesada humana de los anticuerpos anti-MMP9, de acuerdo con la invención. Las secuencias de los fragmentos de anticuerpo de la cadena pesada se etiquetan con el nombre de la secuencia de la región de la cadena pesada variable con * antes del nombre: *F20-VH, *F20-VH-GL1, *F20-VH-GL1-V1-V9, *F20-VH-GL1-V1-V9-V14, *F20-VH-GL1-V4-V9, *F20-VH-GL1-V4-V9-V14. Las CDR están subrayadas. Las anotaciones son idénticas a las que se describen en la Figura 2.

45 La Figura 4 muestra la alineación de las secuencias de los fragmentos de anticuerpos de la cadena ligera humana, ejemplares, que comprende la región constante de la cadena ligera humana y la región variable de la cadena ligera humana de los anticuerpos anti-MMP9, de acuerdo con la invención. Las secuencias del fragmento de anticuerpo de cadena ligera se etiquetan con el nombre de secuencia de la región de cadena ligera variable con * antes del nombre: *B03-VL, *B03-VL-GL1. Las CDR están subrayadas. Las anotaciones son idénticas a las descritas en la Figura 2.

50 La Figura 5 muestra la alineación de las secuencias de los fragmentos de los anticuerpos de la cadena ligera humana, ejemplares, que comprende la región constante de la cadena ligera humana y la región variable de la cadena ligera humana de los anticuerpos anti-MMP9 de acuerdo con la invención. Las secuencias del fragmento de anticuerpo de la cadena ligera se etiquetan con el nombre de la secuencia de la cadena ligera variable incluida con * antes del nombre: *B08-VL, *B08-VL-GL6. Las CDR están subrayadas. Las anotaciones son idénticas a las descritas en la Figura 2.

55 La Figura 6 muestra la titulación de la actividad neutralizante de los anticuerpos anti-MMP9 ejemplares, de acuerdo con la invención (las variantes F20-VH/B03-VLc y F20-VH/B08-VLc) hacia proMMP9 humana (A, B) y MMP9 madura humana (C, D). Variantes F20-VH/B03-VLc (A, C), Variantes F20-VH/B08-VLc (B, D).

60

La Figura 7 muestra la actividad neutralizante de los anticuerpos anti-MMP9 ejemplares de acuerdo con la invención hacia los dominios catalíticos de varias metaloproteinasas de matriz humana recombinante.

5 La Figura 8 muestra la titulación de la actividad neutralizante del anticuerpo anti-MMP9 ejemplar de acuerdo con la invención (la variante F20-VH/B08-VLc; líneas sólidas y símbolos oscuros) o testigo isotipo (líneas discontinuas y símbolos claros) hacia MMP9 dimérica humana derivada de neutrófilos (círculos), MMP9 monomérica humana (triángulos) y el complejo NGAL-MMP9 humano (cuadrados).

10 La Figura 9 muestra la titulación de la actividad neutralizante del anticuerpo anti-MMP9 ejemplar de acuerdo con la invención (variante F20-VH/B08-VLc; líneas sólidas y símbolos oscuros) o el anticuerpo comparativo 1 anti-MMP9 (líneas discontinuas y símbolos claros) hacia MMP9 monomérica humana activada con MMP3 (triángulos), MMP9 dimérica (círculos) y complejo NGAL-MMP9 (cuadrados) derivado de neutrófilos humanos.

15 La Figura 10 muestra la cinética de unión de los anticuerpos anti-MMP9 al antígeno MMP9 humano recombinante. La MMP9 activada con MMP3 (paneles A y B) y pro-MMP9 (paneles C y D) se titularon en un chip sensor BIAcore en el cual los anticuerpos anti-MMP9, la variante F20-VH/B08-VLc (paneles A y C) y el anticuerpo comparativo 1 (paneles B y D), han sido inmovilizados primero. Se reportan los sensorgramas de la cinética de unión. Unidad de resonancia (RU). Todos los ejes y son Respuesta (RU); todos los ejes x son Tiempo.

20 La Figura 11 muestra la unión directa y competitiva de los anticuerpos anti-MMP9 a MMP9 humana. La capacidad de unión directa de diversas concentraciones de la variante F20-VH/B08-VLc de los anticuerpos anti-MMP9 biotinilados (círculos oscuros) y el anticuerpo comparativo 1 (círculos claros) hacia pro-MMP9 (panel A) o MMP9 activada con MMP3 (panel B) se evaluaron utilizando un protocolo ELISA normal. Los antígenos de MMP9 fueron recubiertos a una concentración de 2.5 µg/mL. Los testigos fueron estreptavidina-HRP sola (triángulos oscuros), o el testigo isotipo IgG4 humana más el anticuerpo Fab segundo paso de anti-IgG humana biotinilado (cuadrados oscuros).

30 Para los experimentos de unión competitiva (panel C), después de la pre-incubación con el anticuerpo comparativo 1, la variante F20-VH/B08-VLc purificada (ambos utilizados a 50 µg/mL), o amortiguador (ningún anticuerpo) se reveló la MMP9 activada con MMP3, recubierta, utilizando una dosis óptima del anticuerpo comparativo 1 biotinilado (2.5 µg/mL) o la variante F20-VH/B08-VLc (50 µg/mL). Para los paneles A, B, C, los resultados se expresan como la media ± SD (desviación estándar) de la absorbancia corregida (A450-A620) para cada condición realizada por duplicado.

35 La Figura 12 muestra el efecto del anticuerpo anti-MMP9 (variante F20-VH/B08-VLc) sobre la invasión de la línea de células cancerosas a lo largo de una placa de cultivo Transwell® recubierta con Matrigel. Las células de cáncer gástrico humano MGC803 fueron incubadas con forbol 12-miristato 13-acetato (PMA) y con un inhibidor químico general de las MMP (GM-6001), con el anticuerpo anti-MMP9 (F20-VH/B08-VLc), el testigo isotipo o el medio solamente. Las células invasoras se cuantificaron después de 16 horas utilizando Calcein-AM. Cada condición se realizó por duplicado y se reportaron las medias y la SD de las unidades de fluorescencia.

40 La Figura 13 muestra puntuaciones endoscópicas en un modelo de colitis de ratón inducida por DSS. En el día 6 después de la inducción con DSS (dextrano sulfato de sodio), los ratones fueron tratados con el anticuerpo anti-MMP9 (variante F20-VH/B08-VLc) o con el anticuerpo testigo isotipo. Los efectos de la variante F20-VH/B08-VLc se muestran como barras negras, el testigo isotipo se muestra como barras sombreadas. Se reportaron las medias y SD de las puntuaciones endoscópicas para ambos grupos de ratones tratados (n=5 para F20-VH/B08-VLc; n=6 para el testigo isotipo); Las comparaciones estadísticas de los datos del grupo (F20-VH/B08-VLc frente al testigo isotipo en el día 14 después de inducción DSS) se realizaron utilizando la prueba T no pareada, bidireccional, utilizando Graph Pad Prism. *p= 0.005.

50 La Figura 14 muestra las puntuaciones histológicas totales, puntuaciones de la infiltración y daño epitelial de secciones de colon de ratones con colitis inducida por DSS, tratados con el anticuerpo anti-MMP9 (variante F20-VH/B08-VLc) o el anticuerpo del testigo isotipo. (A) Puntuación histológica total, (B) infiltración (C) daño epitelial. Los valores individuales, las medias y las SD por cada criterio se reportan para ambos grupos de ratones tratados (n=5 para F20-VH/B08-VLc; n=5 para el testigo isotipo).

60 La Figura 15 muestra secciones transversales representativas de injertos intestinales explantados de ratón teñidos con hematoxilina-eosina. (A) Día 0 – Resección de intestino delgado recién aislado con lumen abierto y estructuras típicas de criptas. (B) Testigo isotipo día 14 – oclusión completa del lumen intestinal 14 días después del trasplante en el ratón tratado con testigo isotipo (n=5). (C) Variante F20-VH/B08-VLc día 14 – oclusión parcial del lumen intestinal 14 días después del trasplante en ratones tratados con anti-MMP9 (n=5).

65 La Figura 16 muestra secciones transversales representativas de injertos intestinales explantados de ratón teñidos con rojo Sirio y la cuantificación del espesor de la capa de colágeno. Resección de intestino delgado recién aislado (A y B). Día 14 después del trasplante en ratones tratados con el testigo isotipo (C y D). Día 14 después de trasplante en ratones tratados con anticuerpo anti-MMP9 (variante F20-VH/B08-VLc) (E y F). Luz de transmisión (A,

C y E), luz polarizada (B, D y F). (G) Cuantificación del espesor de la capa de colágeno en injertos intestinales heterotópicos de ratones tratados con anti-MMP9 o testigo isotipo. Se reportan las medias y SD del espesor de la capa de colágeno de las secciones de los trasplantes para ambos grupos de ratones tratados (72 secciones para F20-VH/B08-VLc; 64 secciones para el testigo isotipo). Se realizaron comparaciones estadísticas de los datos de los grupos (F20-VH/B08-VLc frente al testigo isotipo) utilizando la prueba t no pareada, bidireccional, utilizando Graph Pad Prism. ***p < 0.0001.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

El término "Metaloproteinasa de matriz 9", abreviado como "MMP9", también conocido como colagenasa tipo IV de 92 kDa, gelatinasa o gelatinasa B de 92 kDa (GELB), es una enzima que, en humanos, es codificada por el gen MMP9 cuya secuencia se describe en el número de acceso de NCBI ENSG00000100985. La forma de la MMP9 humana comprende una secuencia de 707 aminoácidos en total, disponible con el número de acceso NCBI NP 004985.2 (ID SEC NO: 1). La estructura de dominio general de la MMP9 comprende una secuencia líder secretora (los residuos 1-19 en la ID SEC NO: 1), un pro-dominio inhibitorio requerido para la latencia catalítica (los residuos 20-106 en la ID SEC NO: 1), un dominio catalítico 'dividido' (residuos 107-441 en la ID SEC NO: 1) que contiene tres bucles de repetición similares a fibronectina tipo II que juntos forman un dominio de unión al colágeno (CBD), un ligador rico en prolina hiperglicosilado (también mencionado como el dominio OG) (los residuos 442-520 en la ID SEC NO: 1), y un dominio C-terminal de repetición similar a hemopexina (PEX) (residuos 521-707 en la ID SEC NO: 1) (*Rowell et al, 2002, J Mol Biol 319:173-81*) (Figura 1). La MMP9 se secreta y mantiene como una forma latente, inactiva, mediante un pro-dominio. La eliminación proteolítica del pro-dominio desencadena la actividad enzimática de MMP9, y después la MMP9 puede ser denominada como "MMP9 activa". Su dominio catalítico contiene una región de unión a la gelatina, que proporciona afinidad específica para la gelatina. Además de la gelatina, la MMP9 tiene varios sustratos tales como los colágenos (p. ej., colágeno IV y colágeno V), elastina, galectina3, entactina e ICAM-1 (*Ram et al, 2006, J. Clin. Immunol. 26, 299-307*), y citocinas y quimiocinas (*Opdenakker et al, Trends Immunol. 2001: 22:527-81*). El término "anticuerpo" como se hace referencia en la presente, designa un polipéptido que se une a un antígeno. Esto incluye anticuerpos enteros y cualquier fragmento de unión al antígeno.

El término "anticuerpo" se utiliza en su sentido más amplio e incluye anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos, y otros anticuerpos manipulados, siempre que se conserven las propiedades características de la invención, en particular la capacidad de unión al antígeno diana, más específicamente al mismo epítipo de MMP9, como el que reconocen los anticuerpos de la invención. Los ejemplos de anticuerpos y fragmentos de éstos incluyen un fragmento de dominio variable ("Fv", que comprende los dominios VH y VL de un solo brazo de un anticuerpo), el fragmento Fab (fragmento monovalente que comprende los dominios VH, VL, CH1 y CL), fragmento Fab₂ (bivalente), fragmento Fab₃ (trivalente), fragmento Fab' (Fab con región bisagra), F(ab')₂ fragmento (fragmento bivalente que incluye dos fragmentos Fab ligados a un puente disulfuro en la región bisagra), fragmento Fd (que comprende los dominios VH y CH1), rIgG (IgG reducida o semi-IgG), diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, anticuerpos monovalente, anticuerpos divalentes o multivalentes que comprenden un fragmento de más de un anticuerpo, fragmento variable de cadena sencilla (ScFv), bis-scFv (biespecífico), y derivados de anticuerpos como puede fragmentos Fv estabilizados con disulfuro, péptidos que comprenden CDR, así como fragmentos de unión al epítipo de cualquiera de los anteriores (*Holliger and Hudson, 2005, Nature Biotechnology, 23(9): 1126-1136*). Un anticuerpo se refiere a una glicoproteína que comprende al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) inter-conectadas por enlaces disulfuro, o un fragmento de unión al antígeno de éste. Cada cadena pesada comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región constante de la cadena pesada (CH). Cada cadena ligera comprende una región variable de la cadena ligera (VL) y una región constante de la cadena ligera (CL). En mamíferos, la cadena pesada puede ser alfa (α), delta (δ), épsilon (ε), gamma (γ) o mu (μ), que define la clase de anticuerpo IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, respectivamente. En mamíferos, la cadena ligera puede ser lambda (λ) o kappa (κ). En mamíferos, dependiendo de la clase de anticuerpo, la región constante de la cadena pesada comprende tres dominios de inmunoglobulina, CH1, CH2 y CH3 (para IgA, IgD, IgG) o cuatro dominios de inmunoglobulina, CH1, CH2, CH3 y CH4 (para IgE e IgM). La región constante de la cadena ligera comprende un dominio de inmunoglobulina, CL. Un anticuerpo puede tener la estructura de una IgA, IgG, IgE, IgD e IgM así como cualquier subtipo de éstas. Los anticuerpos pueden ser de cualquier origen incluyendo, en particular, primate (primate humano y no humano) y origen primatizadas.

El término "dominio variable" o "región variable" (dominio variable de una cadena ligera (VL), dominio variable de una cadena pesada (VH) como se utiliza en la presente se refiere a cada uno de los pares de dominios de cada ligera y pesada que están implicados directamente en la unión del anticuerpo al antígeno. Los dominios variables de la cadena ligera y pesada tienen la misma estructura general, y cada dominio comprende cuatro regiones marco ("FR") cuyas secuencias son ampliamente conservadas, conectadas por tres "regiones hipervariables" denominadas "regiones determinantes de la complementariedad" o "las CDR". Las regiones marco adoptan una conformación de lámina β y las CDR pueden formar bucles que conectan la estructura de la lámina β. Las CDR en cada cadena se mantienen en su estructura tridimensional por las regiones marco y forman, junto con las CDR de la otra cadena, el

sitio de unión al antígeno. El término "porción de unión al antígeno de un anticuerpo" cuando se utiliza en la presente se refiere a los residuos de aminoácidos de un anticuerpo que es responsable de la unión al antígeno. La porción de unión al antígeno de un anticuerpo comprende residuos de aminoácidos de las "regiones determinantes de la complementariedad" o "las CDR". Las regiones "marco" o "FR" son aquellas regiones del dominio variable diferentes de los residuos de la región hipervariable como se define en la presente. Por tanto, los dominios variables de la cadena ligera y pesada de un anticuerpo comprenden desde N- hasta C-terminal: los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. Los residuos de las regiones CDR y FR se numeran de modo convencional de acuerdo con la definición normal de Kabat et al. (*Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5a ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991), Publicación No. 91-3242*). Este sistema de numeración se utiliza en la presente especificación excepto donde se indique de otro modo. Las designaciones de residuos Kabat no siempre corresponden directamente a la numeración lineal de los residuos de aminoácidos. La secuencia de aminoácidos lineal, real, puede contener menos o más aminoácidos que la numeración Kabat estricta correspondiente a un acortamiento, o inserción en, un componente estructural, ya sea de la región marco o determinante de la complementariedad (CDR), de la estructura del dominio variable básica. La numeración Kabat correcta de residuos puede ser determinada por un anticuerpo dado mediante la alineación de residuos de homología en la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada Kata "normal". Las CDR del dominio variable de cadena pesada se ubican en los residuos 31-35 (CDR-H1), residuos 50-65 (CDR-H2) y residuos 95-102 (CDR-H3) de acuerdo con el sistema de numeración Kabat. Las CDR del dominio variable de cadena ligera se ubican en los residuos 24-34 (CDR-L1), residuos 50-56 (CDR-L2) y residuos 89-97 (CDR-L3) de acuerdo con el sistema de numeración Kabat.

En la presente solicitud, a menos que se especifique de otro modo, para todos los dominios variables de cadena pesada y ligera de inmunoglobulina humana, la numeración está de acuerdo con el "sistema de numeración Kabat" (*Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5a ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991), Publication No. 91-3242*).

En la presente solicitud, a menos que se especifique de otro modo, para todos los dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina humana, la numeración es de acuerdo con el "sistema de numeración de la UE" (*Edelman et al, 1969, Proc Natl Acad Sci, 63(1): 78-85*).

El término "anticuerpo monoclonal" cuando se utiliza en la presente se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos considerablemente homogéneos, es decir, cada uno de los anticuerpos que comprende la población son idénticos, excepto por las posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en menores cantidades. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, siendo dirigidos contra un sitio antigénico único. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo que se obtuvo a partir de una población considerablemente homogénea de anticuerpos, y no debe interpretarse que requiere la producción del anticuerpo por cualquier método en particular.

El término "anticuerpo quimérico" en general se refiere a un anticuerpo que comprende una región variable de una fuente o especies y al menos una parte de una región constante derivada de una fuente o especie diferente, normalmente preparado mediante técnicas de DNA recombinante. Un ejemplo típico de anticuerpos quiméricos incluye aquellos que comprenden una región variable murina y una región constante humana. Como se define en la presente, este término también incluye un anticuerpo que comprende al menos una de las CDR de un primer anticuerpo humano y al menos una parte de una región constante de un segundo anticuerpo humano. Debe incluir un anticuerpo que comprenda CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada de un primer anticuerpo humano y CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera de un segundo anticuerpo humano.

El término "anticuerpo humanizado" designa anticuerpos de una especie no humana que tiene una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de dicha especie no humana y una región marco de una molécula de inmunoglobulina humana. Los anticuerpos humanizados pueden, como una opción, además comprender uno o más residuos del marco derivados de la especie no humana a partir del cual se derivaron las CDR.

El término "anticuerpo humano" o "anticuerpo completamente humano" se refiere a anticuerpos en el que las regiones variables y las regiones constantes tanto de cadenas pesadas como ligeras todas son de origen humano, o considerablemente idénticas a las secuencias de origen humano, pero no necesariamente del mismo anticuerpo.

El término "anticuerpo aislado" se refiere a un anticuerpo que ha sido separado de un componente de su ambiente natural. Por ejemplo, un anticuerpo aislado ha sido purificado en más del 95% o 99% de pureza, como se determina por los métodos conocidos en la técnica (véase, p. ej., *Flatman et al, 2007, J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 848: 79-87*) incluyendo el método electroforético (p. ej., SDS-PAGE, enfoque isoeléctrico, electroforesis capilar) o cromatográfico (p. ej., intercambio iónico o HPLC (cromatografía líquida de alta resolución) de fase inversa

Los términos "polinucleótido" o "molécula de ácido nucleico" se refieren a un polímero que comprende nucleótidos. Los ejemplos de moléculas de ácido nucleico incluyen DNA, RNA, ácido nucleico bloqueado (LNA), DNA complementario (cDNA).

"Polipéptido" se entiende como un péptido, un oligopéptido, un oligómero o una proteína que comprende al menos dos aminoácidos unidos entre sí por un enlace peptídico normal o modificado, como puede ser en los casos de los péptidos isostéricos, por ejemplo. Un polipéptido puede estar compuesto de aminoácidos diferentes de los 20 aminoácidos definidos por el código genético. Un polipéptido puede igualmente estar compuesto de aminoácidos modificados por procesos naturales, como puede ser procesos de maduración post-traduccional o mediante procesos químicos, los cuales son bien conocidos por una persona experta en la técnica. Tales modificaciones están completamente detalladas en la literatura. Estas modificaciones pueden aparecer en cualquier parte del polipéptido: en el esqueleto peptídico, en la cadena lateral o incluso en los extremos carboxi- o amino-terminal. Por ejemplo, se entiende que las modificaciones del polipéptido incluyen acetilación, acilación, ADP-ribosilación, amidación, fijación covalente de flavina, fijación covalente de hemo, fijación covalente de un nucleótido o de un derivado de nucleótido, fijación covalente de un lípido o de un derivado lipídico, la fijación covalente de un fosfatidilinositol, reticulación covalente o no covalente, ciclación, formación de enlace disulfuro, desmetilación, formación de cisteína, formación de piroglutamato, formilación, gamma-carboxilación, glicosilación incluida pegilación, formación de anclajes GPI, hidroxilación, yodación, metilación, miristoilación, oxidación, procesos proteolíticos, fosforilación, prenilación, racemización, senolización, sulfatación, adición de aminoácidos como arginilación o ubiquitinación. Tales modificaciones están completamente detalladas en la literatura (*Proteins Structure and Molecular Properties (1993) 2a Ed., T. E. Creighton, New York; Post-translational Covalent Modifications of Proteins (1983) B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York; Seifter et al. (1990) Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors, Meth. Enzymol. 182: 626-646 and Rattan et al., (1992) Protein Synthesis: Post-translational Modifications and Aging, Ann NY Acad Sci, 663: 48-62*).

"Polinucleótido aislado" o "polipéptido aislado" se entiende como un polinucleótido o un polipéptido tal como se ha definido anteriormente, el cual se aísla de un cuerpo humano o se produce de otro modo por un proceso técnico.

El término "variante" puede aplicar a un polinucleótido y/o un polipéptido. Por ejemplo, una variante de un péptido o polipéptido, como se menciona en la presente significa un péptido o polipéptido considerablemente homogéneo a la secuencia peptídica a la que se hace referencia, pero que tiene una secuencia de aminoácidos diferente de la secuencia a la que se hace referencia debido a una o más deleciones, inserciones y/o sustituciones de aminoácidos. Considerablemente homólogo significa una secuencia de aminoácidos variante que es idéntica a la secuencia peptídica a la que se hace referencia, excepto para la deleición, inserción y/o sustitución de unos pocos aminoácidos, p. ej., 1, 2, 3, 4, 5 o 6 aminoácidos. Considerablemente homólogo significa una secuencia de aminoácidos variante que es al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos a la que se hace referencia. Una secuencia de ácido nucleico variante puede ser al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a la secuencia de ácido nucleico a la que se hace referencia. La identidad de dos secuencias de aminoácidos o de dos secuencias de ácido nucleico puede determinarse mediante inspección visual y/o cálculos matemáticos, o más fácilmente comparando la información de la secuencia utilizando el programa de cómputo conocido utilizado para la comparación de secuencias como puede ser el paquete Clustal versión 1.83. Una variante puede comprender una secuencia que tenga al menos un aminoácido sustituido de forma conservadora, lo que significa que un residuo de aminoácido determinado se reemplaza por un residuo que tenga características fisicoquímicas similares. En general, las sustituciones para uno o más aminoácidos presentes en el polipéptido original deben hacerse de manera conservadora. Los ejemplos de sustituciones conservadoras incluyen la sustitución de un residuo alifático por otro, como puede ser Ile, Val, Leu o Ala uno para el otro, o sustituciones de un residuo polar para otro, como puede ser entre Lys y Arg; Glu y Asp; o Gin y Asn. Otras sustituciones conservadoras de este tipo, por ejemplo, sustituciones de regiones enteras que tengan características de hidrofobicidad semejantes, son bien conocidas (*Kyte, et al, 1982, J. Mol. Biol, 157: 105-131*). Por ejemplo, una "sustitución conservadora de aminoácidos" puede implicar una sustitución de un residuo de aminoácido nativo con un residuo no nativo de tal manera que haya poco o ningún efecto sobre la polaridad o carga del residuo de aminoácido en esa posición. Las sustituciones deseadas de aminoácidos (conservadoras o no conservadoras) pueden ser determinadas por los expertos en la técnica en el momento de que se deseen tales sustituciones. Las sustituciones aminoácidos ejemplares se presentan en la Tabla 1 a continuación. El término "variante" también incluye un péptido o polipéptido considerablemente homólogo a la secuencia peptídica a la que se hace referencia, pero que tiene una secuencia de aminoácidos diferente de la secuencia a la que se hace referencia debido a que uno o más aminoácidos han sido modificados químicamente o sustituidos por análogos de aminoácidos. Este término también incluye polipéptidos glicosilados.

Tabla 1

Residuos originales	Ejemplos de sustituciones
Ala (A)	Val, Leu, Ile
Arg (R)	Lys, Gln, Asn
Asn (N)	Gln
Asp (D)	Glu
Cys (C)	Ser, Ala
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp
Gly (G)	Pro, Ala
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe
Leu (L)	Ile, Val, Met, Ala, Phe
Lys (K)	Arg, Gln, Asn
Met (M)	Leu, Ile, Phe
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr
Pro (P)	Ala, Gly
Ser (S)	Thr, Ala, Cys
Trp (W)	Phe, Tyr
Thr (T)	Ser
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser
Val (V)	Ile, Met, Leu, Phe, Ala

5

El término "epítopo" incluye cualquier determinante antigénico capaz de unirse específicamente a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo. En ciertas modalidades, el determinante epítopo incluye agrupaciones de superficie químicamente activas de moléculas como pueden ser aminoácidos, cadenas laterales de azúcar, fosforilo o sulfonilo, y en ciertas modalidades, pueden tener características estructurales tridimensionales específicas y/o características de carga específicas. Un epítopo es una región de un antígeno que está unido por un anticuerpo. Algunos epítomos comprenden secciones discontinuas de la secuencia de aminoácidos del antígeno, en donde aminoácidos no contiguos se posicionan cerca uno del otro mediante la configuración espacial del antígeno ("epítomos conformacionales") o comprenden una sección de aminoácidos contiguos en la secuencia de aminoácidos del antígeno ("epítomos lineales").

10

15

Cuando se utiliza en la presente el término "unir" o "unión" de un anticuerpo a un antígeno diana significa en al menos interacción o asociación temporal de dicho anticuerpo con, o a, dicho antígeno diana (como puede ser MMP9) o con, o a, fragmentos de dicho antígeno diana que comprenden un epítopo reconocido por dicho anticuerpo.

20

Los términos "se une selectivamente", "se une específicamente", "específico para", cuando se aplican a un anticuerpo, indican que el anticuerpo preferencialmente reconoce y/o se une al polipéptido o epítopo diana, es decir, con una mayor afinidad que a cualquier otro antígeno o epítopo, es decir, la unión al polipéptido diana puede ser discriminada de la unión no específica a otros antígenos. La afinidad de unión de un anticuerpo puede ser determinada fácilmente por un experto en la técnica, por ejemplo, por análisis de Scatchard (*Scatchard et al., 1949, Ann. N. Y. Acad. 1949. 51, 660-672*).

25

Cuando se utiliza en la presente, "afinidad de unión" en general se refiere a la constante de asociación aparente o "Ka". La Ka es el recíproco de la constante de disociación "Kd". La afinidad de unión puede ser determinada por una variedad de métodos que incluyen diálisis de equilibrio, unión de equilibrio, filtración de gel, ELISA, resonancia o espectroscopia de plasmón de superficie (p. ej., utilizando un ensayo de fluorescencia). Las condiciones ejemplares para la evaluación de la afinidad de unión están en el amortiguador TRIS (Tris-HCl 50 mM, NaCl 150 mM, CaCl₂ 5 mM a pH 7.5). Estas técnicas pueden ser utilizadas para medir las concentraciones de la proteína de unión unida y libre en función de la concentración de la proteína de unión (o diana). La concentración de la proteína de unión unida ([Unida]) se relaciona con la concentración de proteína de unión libre ([Libre]) y la concentración de sitios de unión para la proteína de unión en la diana, en donde (N) es el número de sitios de unión por molécula diana mediante la siguiente ecuación: $[Unida]=N \times ([Libre])/((1/Ka) + [Libre])$. La comparación de la afinidad entre dos anticuerpos puede ser establecida sin determinar realmente el valor Ka para cada anticuerpo, pero con base en una medición cuantitativa de afinidad (p. ej., por ELISA o análisis FACS) que es proporcional a Ka o una medición cualitativa de la afinidad o una inferencia de la afinidad (p. ej., en ensayos funcionales o ensayo *in vitro* o *in vivo*).

30

35

40

El término actividad de "bloqueo" o "neutralización" de un anticuerpo se refiere a su capacidad para inhibir la actividad de su diana. Aplicado a un anticuerpo que se une a MMP9, este término se refiere a la capacidad del

- anticuerpo para neutralizar, en general, la actividad de MMP9, pero inhibiendo la activación de proMMP9 y/o inhibiendo la actividad catalítica de la MMP9 activada en uno de sus sustratos como puede ser gelatina, por ejemplo, como se describe en la sección de Ejemplos. La actividad neutralizante de un anticuerpo anti-MMP9 puede determinarse mediante ensayos *in vitro* libres de células, o en ensayos *in vivo* o ensayos funcionales *in vitro* como puede ser un ensayo de invasión de líneas de células de cáncer humano. En un ensayo transwell de invasión de líneas de células de cáncer humano, las células de cáncer se degradan y migran a través de una matriz de membrana basal (Matrigel®), limitando de este modo el proceso *in vivo* de intravasación de células tumorales en vasos sanguíneos cercanos y extravasación e invasión en un tejido lejano.
- La "potencia" de un anticuerpo puede ser expresada como la concentración de anticuerpo/fragmento de unión al antígeno que produce el efecto medio máximo en una concentración de antígeno determinada. Por ejemplo, el "efecto" de un anticuerpo puede ser la inhibición o neutralización de la actividad de su diana. En este caso, la concentración de anticuerpo que produce la inhibición media máxima se denomina IC₅₀, que se da en mol/L o M. La potencia es normalmente influenciada por la afinidad hasta que, a una concentración de antígeno determinada, una afinidad se alcanza más allá de la cual otras mejoras en la afinidad no mejorarán más la unión de antígeno (denominada tope de potencia o potencia máxima). Aplicada a un anticuerpo contra MMP9, la potencia puede, por ejemplo, ser determinada midiendo el valor IC₅₀ de la digestión dependiente de MMP9 del sustrato de gelatina en presencia del anticuerpo.
- El término "eficacia de la inhibición" o "eficacia de neutralización", aplicado a un anticuerpo neutralizante, es una medida de la eficacia de dicho anticuerpo en la inhibición de una función biológica o bioquímica específica expresada como un porcentaje de la inhibición potencial total de la actividad biológica o bioquímica que se normaliza al 100%. Aplicada a un anticuerpo que se une a MMP9, el 100% de eficacia puede, por ejemplo, ser la inhibición total mediada por el anticuerpo de la digestión dependiente de MMP9 de un sustrato de gelatina. El término "función efectora" del anticuerpo, cuando se utiliza en la presente, incluye un evento bioquímico que resulta de la interacción de una región Fc de anticuerpo con un receptor o ligando de Fc. Las funciones efectoras incluyen funciones efectoras mediadas por Fc γ R como pueden ser ADCC (citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos) y ADCP (fagocitosis mediada por células dependientes de anticuerpos), y funciones efectoras mediadas por el complemento como pueden ser CDC (citotoxicidad dependiente del complemento). Una función efectora de un anticuerpo puede ser alterada cambiando, es decir, mejorando o reduciendo, preferentemente mejorando, la afinidad del anticuerpo para una molécula efectora como puede ser un receptor de Fc o un componente del complemento. La afinidad de unión de una región Fc del anticuerpo con un receptor o ligando de Fc puede ser alterada modificando el sitio de unión de la molécula efectora. También es posible que una alteración en el sitio de unión en el anticuerpo para la molécula efectora altere la geometría de la interacción sin alterar significativamente la afinidad de unión en general, haciendo al mecanismo efector ineficaz como en la unión no productiva. También es posible alterar una función efectora modificando un sitio no directamente implicado en la unión de la molécula efectora, pero implicando de otro modo el desempeño de la función efectora. Al alterar la función efectora de un anticuerpo puede ser posible controlar diversos aspectos de la respuesta inmune, p. ej., potenciando o suprimiendo diversas reacciones del sistema inmune, con posibles efectos benéficos en el diagnóstico y la terapia.
- El término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a un portador que comprende un material que no es biológicamente o de otro modo no deseable.
- El término "portador" se refiere a cualquier componente presente en una formulación farmacéutica diferente del agente activo y de este modo incluye diluyentes, aglutinantes, lubricantes, desintegradores, materiales de carga, agentes colorantes, agentes humectantes o emulsificadores, agentes amortiguadores de pH, preservadores y similares.
- Cuando se utiliza en la presente, "tratamiento" y "tratando" y similares, en general, significa la obtención de un efecto farmacológico o fisiológicamente deseado. El efecto puede ser profiláctico en términos de la prevención o la prevención parcial de una enfermedad, síntoma o estado de éste y/o puede ser terapéutico en términos de una cura parcial o completa de una enfermedad, estado, síntoma o efecto adverso atribuido a la enfermedad. El término "tratamiento" cuando se utiliza en la presente cubre cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero, en particular un humano, e incluye: (a) prevenir que la enfermedad se produzca en un individuo que pueda estar predispuesto a la enfermedad pero aún no ha sido diagnosticada que la tenga, por ejemplo, con base en la historia familiar; (b) inhibir la enfermedad, es decir, deteniendo su desarrollo; o (c) aliviando la enfermedad, es decir, causando la regresión de la enfermedad y/o sus síntomas o estados como puede ser la mejora o reparación del daño. Por ejemplo, el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino comprende la prevención, disminución o incluso erradicación de los síntomas de las enfermedades o trastornos, por ejemplo, al alivio parcial o total de diarrea, dolor abdominal y calambres, sangre en las heces, abscesos, úlceras y fístulas.
- El término "trastornos relacionados con MMP9", como se define en la presente, designa las enfermedades mediadas o influenciadas, al menos en parte, por la expresión y/o actividad de MMP9. Los ejemplos de enfermedades relacionadas con MMP9 incluyen enfermedades inflamatorias y autoinmunes, cánceres o tumores, enfermedades pulmonares, enfermedades fibróticas como puede ser enfermedades pulmonares fibróticas, septicemia, distrofia

muscular, alergia, fibrosis renal, esclerodermia, cardiomiopatía dilatada, enfermedad de Chagas, enfermedades cardiovasculares, trastornos neuropsiquiátricos, diabetes y enfermedades oculares.

Los términos "enfermedades inflamatorias y autoinmunes" se definen en la presente, en general, como anomalías inflamatorias que puedan o no implicar el sistema inmune y enfermedades o trastornos que surgen de una respuesta inmunitaria anormal del cuerpo del individuo contra sustancias y tejidos normalmente presentes en el cuerpo, respectivamente. Los ejemplos no limitativos de enfermedades inflamatorias y autoinmunes incluyen principalmente enfermedades inflamatorias intestinales (IBD) incluida la enfermedad de Crohn (CD) (en particular enfermedad de Crohn con consecuencias penetrantes (fistulizante) y constrictiva (estenosante), colitis ulcerosa (UC), colitis indeterminada, colitis colagenosa, artritis reumatoide (RA), esclerosis múltiple (MS), lupus eritematoso sistémico (SLE), síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica, polimiositis, aterosclerosis.

El término "enfermedad inflamatoria del intestino" (IBD) se define en la presente como enfermedad que implica la inflamación crónica de todo o parte del tracto digestivo. Los ejemplos no limitativos de IBD incluyen enfermedad de Crohn, en particular enfermedad de Crohn no penetrante (no fistulizante) y no constrictiva (no estenosante), enfermedad de Crohn penetrante (fistulizante) y constrictiva (estenosante) y enfermedad de Crohn fistulizante, colitis ulcerosa (UC), colitis indeterminada, colitis colagenosa, colitis linfocítica y fibrosis intestinal. La enfermedad de Crohn (CD) se define como una enfermedad de inflamación transmural con lesiones irregulares (por parches) que pueden implicar cualquier parte del tracto GI desde la boca al ano. La colitis ulcerosa es una enfermedad de inflamación mucosa limitada al colon.

Los términos "cánceres" o "tumores" como se define en la presente, son enfermedades que implican el crecimiento celular anormal con el potencial de invadir o propagarse a otras partes del cuerpo. El término "cánceres" designa enfermedades ejemplificadas por, más no limitadas a, cáncer hematopoyético, cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de cabeza y cuello, cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer de vejiga urinaria, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, melanoma, cáncer de próstata, cáncer muscular, cáncer mesenquimal, adenocarcinoma esofagogástrico, cáncer pulmonar de células no pequeñas, carcinoma pulmonar de células escamosas, adenocarcinoma pulmonar, adenocarcinoma gástrico, adenocarcinoma pancreático, carcinoma hepatocelular y cáncer colorrectal.

El término "enfermedad pulmonar" designa enfermedades ejemplificadas por, más no limitadas a, asma, enfermedades pulmonares fibróticas como puede ser pulmonar idiopática, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) y rinitis.

El término "enfermedades fibróticas" se define en la presente como una enfermedad en donde los tejidos afectados presentan una acumulación excesiva de tejidos conectivo fibroso (componentes de la matriz extracelular como pueden ser colágeno y fibronectina) en y alrededor del tejido inflamado o dañado, que puede dar origen a cicatrices permanentes, mal funcionamiento del órgano y, en última instancia, la muerte, como se observa en la enfermedad hepática en etapa terminal, enfermedad renal, fibrosis pulmonar idiopática (IPF) e insuficiencia cardíaca. Los ejemplos no limitativos de enfermedades fibróticas incluyen esclerosis sistémica, fibrosclerosis multifocal, enfermedad de injerto contra huésped con complicación esclerodérmica en receptores de trasplante de médula ósea, fibrosis sistémica nefrogénica, fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, mielofibrosis y lupus eritematoso sistémico.

Los términos "estados oculares" o "enfermedades oculares" se definen en la presente como enfermedades de los ojos asociadas con degeneración progresiva del epitelio pigmentario retiniano y fotorreceptores que dan origen a la pérdida visual y/o enfermedades de los ojos asociados con daño a los vasos sanguíneos de la retina. Los ejemplos no limitativos de estados oculares incluyen patologías fibróticas de la lente, enfermedades corneales, retinopatía diabética, degeneración macular relacionada con la edad "seca" o "húmeda", vitreorretinopatía proliferativa, formación de cataratas, pterigión, queratocono, degeneración macular relacionada con la edad y retinopatía diabética.

El término "enfermedades cardiovasculares" se define en la presente como enfermedades del sistema cardiovascular que implican inflamación, alteración de la remodelación del tejido con aumento en el colágeno y acumulación de cicatriz fibrótica en infarto de miocardio. Los ejemplos no limitativos de enfermedades cardiovasculares incluyen hipertensión, hipertensión pulmonar, enfermedad pulmonar o de la válvula tricúspide, enfermedad de la válvula aórtica y mitral, coartación aórtica, aterosclerosis, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca, cardiomiopatía diabética, cardiomiopatía dilatada, arritmia crónica, fibrosis cardíaca y enfermedad de arteria coronaria.

Los términos "trastornos neurológicos" o "trastornos neuropsiquiátricos" se definen en la presente como enfermedades caracterizadas por la disfunción neuronal y muerte de células neuronales, que da origen a déficits funcionales incurables y a menudo fatales. Los ejemplos no limitativos de trastornos neurológicos incluyen esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, inflamación neuronal, isquemia cerebral y dolor neuropático.

El término "individuo" cuando se utiliza en la presente se refiere a mamíferos. Por ejemplo, los mamíferos contemplados por la presente invención incluyen humanos, primates, animales domesticados como ganado, ovejas, cerdos, caballos, roedores de laboratorio y similares.

5 El término "eficacia" de un tratamiento o método de acuerdo con la invención puede medirse con base en los cambios en el transcurso de la enfermedad o estado en respuesta a un uso o un método de acuerdo con la invención. Por ejemplo, la eficacia de un tratamiento o método de acuerdo con la invención puede ser medida mediante su impacto sobre los signos o síntomas de la enfermedad. Una respuesta se logra cuando el paciente experimenta alivio parcial o total, o reducción de los síntomas no deseados de la enfermedad.

10 El término "cantidad eficaz" cuando se utiliza en la presente se refiere a una cantidad de al menos un anticuerpo de acuerdo con la invención, o una formulación farmacéutica de éste, que provoca una reducción detectable de los síntomas de la enfermedad en un individuo al que se le administra dicho anticuerpo, estos síntomas pueden incluir, por ejemplo: a) diarrea, dolor abdominal y cólico, sangre en las heces, abscesos, úlceras y fistulas, en el caso de enfermedad inflamatoria del intestino o b) estreñimiento o diarrea, sangre de color rojo brillante o rojo oscuro en las heces, pérdida de peso, fatiga, náusea y anemia, en el caso de cáncer colorrectal.

Proteínas de unión a MMP9

20 *Características generales de las proteínas de unión a MMP9*

En un primer aspecto, la presente invención proporciona proteínas que se unen a MMP9, en particular MMP9 humana, o un fragmento de ésta, y comprenden al menos un fragmento de una región variable de la cadena pesada y/o al menos un fragmento de una región variable de la cadena ligera de un anticuerpo como se describe en la presente.

En una modalidad de la invención se proporcionan anticuerpos aislados específicos para MMP9, en particular MMP9 humana, o fragmentos de unión al antígeno de ésta, que comprenden al menos un fragmento de una región variable de la cadena pesada y al menos un fragmento de una región variable de la cadena ligera, y como una opción, al menos un fragmento de una región constante, como se describe en la presente.

En una modalidad alternativa de la invención se proporcionan anticuerpos aislados específicos para MMP9, en particular MMP9 humana, fragmentos de unión al antígeno de ésta, caracterizados por su unión a un epítipo en MMP9, como se describe en la presente.

La proteína a la cual se unen los anticuerpos de acuerdo con la invención, o fragmentos de éstos, puede ser la proteína MMP9 de cualquier especie.

Los anticuerpos de acuerdo con la presente invención en general presentan una alta especificidad para MMP9 humana. Sin embargo, dependiendo del grado de identidad de la secuencia entre homólogos de MMP9 de diferentes especies (véase la Figura 2), un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno determinado puede mostrar reactividad cruzada con MMP9 de al menos una de otras especies, p. ej., ratón, rata, tití, mono (p. ej., mono *Cynomologus*), perro y/o conejo. Para anticuerpos dirigidos hacia MMP9 humana, algún nivel de reactividad cruzada con otros mamíferos puede ser deseable cierto nivel de reactividad cruzada con otras formas de MMP9 de mamífero en ciertas circunstancias, por ejemplo, cuando se analizan anticuerpos en modelos animales de una enfermedad particular o para realizar estudios de toxicología, seguridad y dosificación.

En una modalidad específica, los anticuerpos de acuerdo con la invención o fragmentos de éstos se unen preferentemente a una MMP9 humana.

En otra modalidad, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o fragmentos de éstos, muestra reactividad cruzada con MMP9 humana, MMP9 de mono *Cynomologus*, MMP9 de rata, y como una opción, MMP9 de ratón.

En algunas modalidades, la afinidad de unión (p. ej., inversamente correlacionada con el valor Kd) de anticuerpos y fragmentos de éstos, de acuerdo con la invención para MMP9 humana es al menos 2 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos 50 veces, al menos 100 veces, al menos 500 veces, o al menos 1000 veces mayor que su afinidad de unión para una MMP9 no humana.

En una modalidad, los anticuerpos de acuerdo con la invención o fragmentos de éstos se unen preferencialmente a MMP9 y, como una opción, además presentan una unión débil, o virtualmente no vinculante (es decir, insignificante o unión no detectable) a otras metaloproteinasas de matriz (MMP) como pueden ser MMP1, MMP2, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, MMP10, MMP12, MMP13, MMP14, MMP16, MMP17, MMP19.

En una modalidad particular, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o fragmentos de éstos, se unen preferentemente a MMP9 y presentan una unión débil, o virtualmente no vinculante (es decir, insignificante o no detectable), a MMP2.

Para usos terapéuticos, puede ser ventajoso que los anticuerpos de acuerdo con la invención, o fragmentos de éstos, no se unan, y de este modo no neutralicen, MMP2 para no afectar considerablemente la actividad de MMP2. De hecho, se requiere MMP2 para la homeostasis tisular normal y también puede tener una función protectora contra la enfermedad, como lo sugieren las observaciones de acuerdo a las cuales los ratones con el gen MMP2 silenciado muestran un fenotipo peor que los ratones tipo nativo, en varios modelos de enfermedad (*Grag et al., 2006, J. Immunol., 177(6):4103-12*).

En algunas modalidades, la afinidad de unión de anticuerpos (p. ej., inversamente correlacionada con el valor Kd de la constante de disociación de equilibrio), y fragmentos de éstos, de acuerdo con la invención para MMP9 es al menos 2 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos 50 veces, al menos 100 veces, al menos 500 veces, o al menos 1000 veces mayor que su afinidad de unión para MMP2.

La afinidad de unión puede medirse por cualquier método conocido en la técnica incluida diálisis incluida diálisis de equilibrio, unión de equilibrio, filtración de gel, ELISA, resonancia o espectroscopia de plasmón superficial (p. ej., utilizando un ensayo de fluorescencia) (*Jiang et al. BMC Pharmacology 2010, 10:10*) y puede ser expresada como, por ejemplo, constante de asociación (on-rate), constante de disociación (off-rate), constante de disociación (Kd), constante de equilibrio (Keq) o cualquier otro término utilizado en la técnica.

En algunas modalidades, los anticuerpos, y fragmentos de éstos, de acuerdo con la invención se unen específicamente a MMP9 humana con un constante de disociación (Kd) igual a o menor que 100 nM, en particular menor que 10 nM, más particularmente menor de 1 nM, o menor que 0.5 nM, o menor que 0.1 nM, o menor que 0.01 nM, o menor que 0.005 nM. La proteína a la cual los anticuerpos de acuerdo con la invención, o fragmentos de éstos, se unen es cualquier forma de MMP9: la proteína inmadura que comprende la secuencia líder secretora ("preproenzima") (correspondiente a los residuos 1-707 de la ID SEC NO: 1 en el caso de MMP9 humana), la MMP9 latente inmadura que carece de la secuencia líder secretora ("proenzima") (correspondiente a los residuos 20-707 de la ID SEC NO: 1 en el caso de MMP9 humana), la he "enzima activada" (correspondiente a los residuos 107-707 de la ID SEC NO: 1 en el caso de MMP9 humana), o cualquier fragmento de MMP9.

Los anticuerpos de acuerdo con la invención, o fragmentos de éstos, pueden unirse a MMP9 interactuando con un epítipo que comprende aminoácidos localizados en cualquier parte de la proteína, p. ej., en el prodominio, el dominio catalítico, en particular en las repeticiones Fn o el ligador del dominio OG, los aminoácidos reconocidos estando situados en uno o más sitios dentro de la proteína. En una modalidad particular, los anticuerpos de acuerdo con la invención, fragmentos de unión al antígeno de éste, se unen a MMP9 interactuando con un epítipo que comprende aminoácidos localizados en el dominio catalítico de MMP9, en particular MMP9 humana. En una modalidad más particular, los anticuerpos de acuerdo con la invención, fragmentos de unión al antígeno de éste, se unen a MMP9 interactuando con un epítipo que comprende al menos un aminoácido dentro de una región que consiste en la ID SEC NO: 41, al menos un aminoácido dentro de una región que consiste en la ID SEC NO: 42, y al menos un aminoácido dentro de una región que consiste en la ID SEC NO: 43, localizada en el dominio catalítico de MMP9 humana. En una modalidad todavía más particular, los anticuerpos de acuerdo con la invención, fragmentos de unión al antígeno de éste, se unen a MMP9 interactuando con un epítipo que comprende los aminoácidos de una región que consiste en la ID SEC NO: 41, los aminoácidos de una región que consiste en la ID SEC NO: 42, y los aminoácidos de una región que consiste en la ID SEC NO: 43, localizada en el dominio catalítico de MMP9 humana.

En una modalidad más particular, los anticuerpos de acuerdo con la invención, fragmentos de unión al antígeno de éste, se unen a MMP9 interactuando con un epítipo que comprende al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, o al menos cinco aminoácidos de una región que consiste en la ID SEC NO: 41, al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, o al menos cinco aminoácidos de una región que consiste en la ID SEC NO: 42, y al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, o al menos cinco aminoácidos de una región que consiste en la ID SEC NO: 43, localizada en el dominio catalítico de MMP9 humana. Por tanto, en una modalidad, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o fragmentos de éste, no solo se unen a MMP9 sino también neutralizan o inhiben la actividad de MMP9 (p. ej., la actividad catalítica de MMP9) inhibiendo el procesamiento de la preproenzima y/o proenzima a la enzima catalíticamente activa y/o inhibiendo la actividad proteolítica de la enzima activada.

En una modalidad particular, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o fragmentos de éstos, no solo se unen a MMP9 sino también neutralizan o inhiben la actividad de MMP9 (p. ej., la actividad catalítica de MMP9) inhibiendo la actividad proteolítica de la enzima MMP9 activada.

En una modalidad particular, los anticuerpos de acuerdo con la presente invención presentan una alta especificidad y actividad inhibitoria para MMP9 humana y pueden mostrar reactividad cruzada con MMP9 de mono *Cynomolgus* (*Macaca fascicularis*), MMP9 de rata y/o MMP9 de ratón.

En una modalidad particular, los anticuerpos de acuerdo con la invención o fragmentos de éstos inhiben la actividad de MMP9 y, como una opción, además presentan una actividad inhibidora débil, o virtualmente sin ninguna actividad

inhibitoria (es decir, actividad insignificante o no detectable) hacia otras metaloproteinasas de matriz (MMP) como pueden ser MMP1, MMP2, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, MMP10, MMP12, MMP13, MMP14, MMP16, MMP17, MMP19.

- 5 En una modalidad particular, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o fragmentos de éstos, presentan una actividad neutralizante hacia MMP9 y una débil o virtualmente sin (es decir, insignificante o no detectable), actividad neutralizante hacia MMP2.

10 La capacidad de un anticuerpo para bloquear o neutralizar la actividad de su proteína puede ser evaluada por su potencia como se define en la presente, la cual se refleja en sí misma, por ejemplo, por el valor IC₅₀. Comúnmente, la actividad neutralizante de un anticuerpo anti-MMP9 puede ser determinada por ensayos *in vitro* libre de células, o ensayos *in vivo* o ensayos funcionales *in vitro* como puede ser un ensayo de invasión de la línea celular de cáncer humano. En un ensayo de invasión de línea celular de cáncer humano en placas de cultivo Transwell®, las células de cáncer se degradan y migran a través de una matriz de membrana basal (Matrigel®), de este modo imitando el
15 proceso *in vivo* de intravasación de células tumorales en vasos sanguíneos cercaos y extravasación e invasión en un tejido lejano.

En algunas modalidades, la potencia inhibidora o neutralizante (p. ej., inversamente correlacionada al valor IC₅₀) de los anticuerpos, y fragmentos de éstos, de acuerdo con la invención para MMP9 humana es al menos 2 veces, al
20 menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos 50 veces, al menos 100 veces, al menos 500 veces, o al menos 1000 veces mayor que su potencia neutralizante para MMP9 no humana.

En algunas modalidades, la potencia inhibidora o neutralizante p. ej., inversamente correlacionada al valor IC₅₀, de anticuerpos, y fragmentos de éstos, de acuerdo con la invención sobre MMP9 es al menos 10 veces, al menos 50
25 veces, al menos 100 veces, al menos 500 veces, o al menos 1000 veces mayor que su potencia inhibidora o neutralizante sobre MMP2.

En algunas modalidades, los anticuerpos, y fragmentos de éstos, de acuerdo con la invención tienen una IC₅₀ igual a o menor que 100 nM, en particular menor que 50 nM, más particularmente menor que 20 nM, menor que 10 nM,
30 menor que 8 nM, menor que 7 nM, menor que 6 nM, menor que 5 nM, menor que 4 nM, menor que 3 nM, menor que 2 nM, menor que 1 nM, menor que 0.5 nM, menor que 0.3 nM, menor que 0.2 nM, o menor que 0.1 nM; para inhibir la actividad catalítica de MMP9 sobre gelatina.

La capacidad de un anticuerpo para bloquear o neutralizar la actividad de su proteína diana también puede ser
35 evaluada por su eficacia de inhibición como se define en la presente, la cual se refleja en sí misma, por ejemplo, por el porcentaje (%) del valor de inhibición.

En algunas modalidades, los anticuerpos, y fragmentos de éstos, de acuerdo con la invención tienen una eficacia igual a superior a 50%, en particular igual a o superior a 60%, en particular igual o superior a 70%, en particular igual
40 o superior a 80%, en particular igual o superior a 90%, en particular igual o superior a 95%, en particular igual a 100%, para inhibir el procesamiento de la preproenzima y/o proenzima y/o inhibiendo la actividad proteolítica de la MMP9 activada, como se determina, por ejemplo, en un ensayo que mide la actividad catalítica de MMP9 hacia gelatina como se describe en la sección Ejemplos.

En una modalidad particular, los anticuerpos, y fragmentos de éstos, de acuerdo con la invención tienen una eficacia igual o superior a 50%, en particular igual o superior a 60%, en particular igual o superior a 70%, en particular igual o
45 superior a 80%, en particular igual o superior a 90%, en particular igual o superior a 95%, en particular igual a 100%, para inhibir la actividad proteolítica de la MMP9 activada, como se determina, por ejemplo, en un ensayo que mide la actividad catalítica de MMP9 hacia gelatina como se describe en la sección de Ejemplos.

Se entiende que cualquier variante de un anticuerpo de acuerdo con la invención, o fragmento de éste, es decir,
50 descrito en la presente, es capaz de unirse a MMP9 y opcionalmente neutralizar la actividad de MMP9. En una modalidad particular, tal variante puede mostrar la misma o incluso mayor afinidad de unión para MMP9 y/o la misma o incluso mayor potencia y/o la misma o mayor selectividad de especies y/o la misma o mayor selectividad para MMP9, y/o la misma o mayor eficacia neutralizante, en comparación con el anticuerpo parental fragmento a partir del cual se obtiene dicha variante.

Los anticuerpos de acuerdo con la invención pueden ser anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales,
60 anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos, y otros anticuerpos manipulados siempre que se mantengan sus propiedades características de la invención, en particular la capacidad de unión al antígeno diana, más específicamente al mismo epítipo de MMP9 como el reconocido por los anticuerpos de la invención, y opcionalmente la capacidad de neutralizar la actividad de MMP9.

En una modalidad particular de la invención, los anticuerpos específicos para MMP9 de acuerdo con la invención, o
65 fragmentos de éstos que se unen específicamente a MMP9, son anticuerpos monoclonales.

En otra modalidad particular de la invención, los anticuerpos específicos para MMP9 de acuerdo con la invención, o fragmentos de éstos, que se unen específicamente a MMP9, son anticuerpos humanos.

5 Los anticuerpos específicos para MMP9 de acuerdo con la invención, o fragmentos de éstos que se unen específicamente a MMP9, pueden ser caracterizados por su porción que interactúa con la proteína diana, en particular por su región variable, que comúnmente comprende una región variable de la cadena pesada y una región variable de la cadena ligera.

Características de las proteínas de unión a MMP9 en relación con su región variable de la cadena pesada

10 En una modalidad, la invención se refiere a anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos que comprenden una región variable de la cadena pesada que comprende: una secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 11, o una variante de la ID SEC NO: 11, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones: N53Q, N53R,
15 N53K, N53H, D61E, S62T, M100LI, D84A y V89L. La ID SEC NO: 11, como se ha definido anteriormente, comprende:

- (i) una CDR1 de la cadena pesada de ID SEC NO: 2
- (ii) una CDR2 de la cadena pesada de ID SEC NO: 3
- (iii) una CDR3 de la cadena pesada de ID SEC NO: 4

20 En una modalidad particular de la invención, al menos un aminoácido en las posiciones 53 y 61 de dicha CDR2 de la cadena pesada, y/o un aminoácido en la posición 100J de dicha CDR3 de la cadena pesada, se sustituyen por un aminoácido diferente, en particular con al menos una de las siguientes sustituciones: N53Q o N53R, D61E, M100JI.

25 En una modalidad particular de la invención, al menos un aminoácido en las posiciones 53, 61 y 62 de dicha CDR2 de la cadena pesada, y/o un aminoácido en la posición 100L de dicha CDR3 de la cadena pesada, se sustituyen por un aminoácido diferente, en particular con al menos una de las siguientes sustituciones: N53Q, N53R, N53K, N53H, D61E, S62T o M100L1.

30 En otra modalidad particular de la invención, dicha variante de CDR2 de la cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre: ID SEC NO: 5, ID SEC NO: 6, ID SEC NO: 7, ID SEC NO: 8 e ID SEC NO: 9.

En otra modalidad particular de la invención, dicha variante de CDR2 de la cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre: ID SEC NO: 49, ID SEC NO: 50 e ID SEC NO: 51.

35 En otra modalidad particular de la invención, dicha variante de CDR3 de la cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 10.

40 En particular, los anticuerpos específicos para MMP9 o fragmento de éstos de acuerdo con la invención comprenden una variante de la ID SEC NO: 11, en donde al menos un aminoácido en las posiciones 53 y 61 de la CDR2 de la cadena pesada, en donde al menos un aminoácido en la posición 100J de la CDR3 de la cadena pesada, y en las posiciones 84 y 89 de la región marco variable de la cadena pesada se sustituyen por un aminoácido diferente, en particular con al menos una de las siguientes sustituciones: N53Q, N53R, D61E, M100JI, D84A y V89L. En particular, los anticuerpos específicos para MMP9 o fragmentos de éstos de acuerdo con la invención comprenden
45 una variante de la ID SEC NO: 11, en donde al menos un aminoácido en las posiciones 53, 61 y 62 de la CDR2 de la cadena pesada, en donde al menos un aminoácido en la posición 100L de la CDR3 de la cadena pesada, y en las posiciones 84 y 89 de la región marco variable de la cadena pesada se sustituyen por un aminoácido diferente, en particular con al menos una de las siguientes sustituciones: N53Q, N53R, N53K, N53H, D61E, S62T, D84A, V89L y M100LI.

50 Más particularmente, los anticuerpos específicos para MMP9 o fragmentos de éstos de acuerdo con la invención comprenden una variante de la ID SEC NO: 11, en donde los aminoácidos en las posiciones 84 y 89 de la región marco variable de la cadena pesada y al menos un aminoácido en las posiciones 53 y 61 de la CDR2 de la cadena pesada, y en la posición position 100J de la CDR3 de la cadena pesada se sustituyen por un aminoácido diferente, en particular con
55 sustituciones D84A y V89L y al menos una de las siguientes sustituciones: N53Q, N53R, D61E, y M100JI.

En particular, los anticuerpos específicos para MMP9 o fragmento de éstos de acuerdo con la invención comprenden una variante de la ID SEC NO: 11, en donde al menos un aminoácido en las posiciones 53, 61 y 62 de la CDR2 de la cadena pesada, en donde al menos un aminoácido at position 100L de la CDR3 de la cadena pesada, y en las
60 posiciones 30, 84 y 89 de la región marco variable de la cadena pesada se sustituyen por un aminoácido diferente, en particular con al menos una de las siguientes sustituciones: N53Q, N53R, N53K, N53H, D61E, S62T, M100LI, D84A y V89L.

65 Los ejemplos específicos de la región variable de la cadena pesada comprendidos en los anticuerpos o fragmentos de éstos de acuerdo con la invención incluyen:

- 5 (i) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 11,
 (ii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 12
 (iii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 13
 (iv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 14
 (v) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 15
 (vi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 16.

Los ejemplos específicos alternativos de la región variable de la cadena pesada comprendidos en los anticuerpos o fragmentos de éstos, de acuerdo con la invención incluyen:

- 10 (i) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 17
 (ii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 18
 (iii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 19
 (iv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 20.

15 Los ejemplos específicos alternativos de la región variable de la cadena pesada comprendidos en los anticuerpos o fragmentos de éstos de acuerdo con la invención incluyen:

- (i) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 48
 (ii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 53
 (iii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 54
 20 (iv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 55
 (v) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 56.

Los ejemplos específicos alternativos de la región variable de la cadena pesada comprendida en los anticuerpos o fragmentos de éstos según la invención incluyen:

- 25 (i) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 12:
 (ii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 13:
 (iii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 14:
 (iv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 15:
 (v) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 16:
 30 (vi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 17:
 (vii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 18:
 (viii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 19:
 (ix) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 20: y
 (x) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 11.

35 *Características de las proteínas de unión a MMP9 en relación con su región variable de la cadena ligera*

En una modalidad, la invención se refiere a anticuerpos aislados específicos para MMP9 fragmentos de unión al antígeno de éstos que comprenden una región variable de la cadena pesada como ya se describió y además comprendiendo una región variable de la cadena ligera seleccionada del siguiente grupo:

- 40 (1) la ID SEC NO: 24, o una variante de la ID SEC NO: 24 con la sustitución V104L;
 (2) la ID SEC NO: 67, o una variante de la ID SEC NO: 67, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones: V46L, V71A y V104L;
 45 (3) la ID SEC NO: 29, o una variante de la ID SEC NO: 29, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones: R8A, V19I, L47M, T60N, L79Q, y A81E; y (4) la ID SEC NO: 69, o una variante de la ID SEC NO: 69, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones: R8A, V19I, L47M, T60N, L79Q, A81E y F86Y.

La ID SEC NO: 24 y la ID SEC NO: 67 como se han definido anteriormente comprenden:

- 50 (i) una CDR1 de la cadena ligera de ID SEC NO: 21
 (ii) una CDR2 de la cadena ligera de ID SEC NO: 22;
 (iii) una CDR3 de la cadena ligera de ID SEC NO: 23.

55 En otra modalidad, los anticuerpos específicos para MMP9, o fragmentos de unión al antígeno de éstos, comprenden una variante de la ID SEC NO: 67, en donde 1, 2 o 3 aminoácidos de al menos una de las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de la cadena ligera, y/o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos de la región marco variable de la cadena ligera se sustituyen por un aminoácido diferente.

60 En otra modalidad particular de la invención, los anticuerpos específicos para MMP9, o fragmentos de unión al antígeno de éstos, comprenden una región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 67 en donde 1 aminoácido está sustituido por diferente aminoácido, en donde dicha región variable de la cadena ligera es de la ID SEC NO: 68.

65 En otra modalidad particular de la invención, los anticuerpos específicos para MMP9, o fragmentos de unión al antígeno de éstos, comprenden una región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 67 en donde 3 aminoácidos están sustituidos por diferentes aminoácidos, en donde dicha región variable de la cadena ligera es de la ID SEC NO: 57.

- 5 En particular, los anticuerpos específicos para MMP9 o fragmento de éstos de acuerdo con la invención comprenden una variante de la ID SEC NO: 24, en donde al menos un aminoácido en la posición 104 de la región marco variable de la cadena ligera se sustituye por un aminoácido diferente, en particular con al menos la siguiente sustitución: V104L.
- Un ejemplo específico de la región variable comprendida en los anticuerpos o fragmentos de éstos de acuerdo con la invención, incluye la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 25.
- 10 En particular, los anticuerpos específicos para MMP9 o fragmento de éstos de acuerdo con la invención comprenden una variante de la ID SEC NO: 67, en donde un aminoácido en las posiciones 104, de la región marco de cadena ligera se sustituye por un aminoácido diferente, en particular con al menos la siguiente sustitución: V104L.
- Un ejemplo específico de la región variable comprendida en los anticuerpos o fragmentos de éstos de acuerdo con la invención, incluye la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 68.
- 15 En particular, los anticuerpos específicos para MMP9 o fragmento de éstos de acuerdo con la invención comprenden una variante de la ID SEC NO: 67, en donde al menos tres aminoácidos en las posiciones 46, 71 y 104 de la región marco de cadena ligera se sustituyen por un aminoácido diferente, en particular con al menos la siguiente sustitución: V46L, V71A y V104L.
- Un ejemplo específico de la región variable comprendida en los anticuerpos o fragmentos de éstos de acuerdo con la invención incluye la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 57.
- 20 Otro aspecto de la invención proporciona una región variable de la cadena ligera de la ID SEC NO: 29 o la ID SEC NO: 69, como se ha definido anteriormente, que comprenden:
- (i) una CDR1 de la cadena ligera de ID SEC NO: 26;
 - (ii) una CDR2 de la cadena ligera de ID SEC NO: 27;
 - (iii) una CDR3 de la cadena ligera de ID SEC NO: 28.
- 30 En otra modalidad particular de la invención, los anticuerpos específicos para MMP9, o fragmentos de unión al antígeno de éstos, comprenden una región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 69 en donde 4 aminoácidos están sustituidos por diferentes aminoácidos, en donde dicha región variable de la cadena ligera es de la ID SEC NO: 58.
- 35 En otra modalidad particular de la invención, los anticuerpos específicos para MMP9, o fragmentos de unión al antígeno de éstos, comprenden una región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 69 en donde 5 aminoácidos están sustituidos por diferentes aminoácidos, en donde dicha región variable de la cadena ligera se selecciona de la ID SEC NO: 59, ID SEC NO: 60 e ID SEC NO: 61.
- 40 En otra modalidad particular de la invención, los anticuerpos específicos para MMP9, o fragmentos de unión al antígeno de éstos, comprenden una región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 29 en donde 6 aminoácidos están sustituidos por diferentes aminoácidos, en donde dicha región variable de la cadena ligera es de la ID SEC NO: 30.
- 45 En otra modalidad particular de la invención, los anticuerpos específicos para MMP9, o fragmentos de unión al antígeno de éstos, comprenden una región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 69 en donde 6 aminoácidos están sustituidos por diferentes aminoácidos, en donde dicha región variable de la cadena ligera se selecciona de la ID SEC NO: 62 e ID SEC NO: 70.
- 50 En otra modalidad particular de la invención, los anticuerpos específicos para MMP9, o fragmentos de unión al antígeno de éstos, comprenden una región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 69 en donde 7 aminoácidos están sustituidos por diferentes aminoácidos, en donde dicha región variable de la cadena ligera es de la ID SEC NO: 63.
- 55 En particular, los anticuerpos específicos para MMP9 o fragmentos de éstos, de acuerdo con la invención comprenden una variante de la ID SEC NO: 29, en donde al menos un aminoácido en las posiciones 8, 19, 47, 60, 79 y 81 de la región marco variable de la cadena ligera se sustituye por un aminoácido diferente, en particular con al menos una de las siguientes sustituciones: R8A, V19I, L47M, T60N, L79Q, y A81E.
- 60 Un ejemplo específico de la región variable comprendida en los anticuerpos o fragmentos de éstos de acuerdo con la invención incluye la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 30.
- 65 En particular, los anticuerpos específicos para MMP9 o fragmentos de éstos de acuerdo con la invención comprenden una variante de la ID SEC NO: 69, en donde al menos un aminoácido en las posiciones 8, 19, 47, 60,

79, 81, 86 de la región marco variable de la cadena ligera se sustituyen por un aminoácido diferente, en particular con al menos una de las siguientes sustituciones: R8A, V19I, L47M, T60N, L79Q, A81E y F86Y.

Un ejemplo específico de la región variable comprendida en los anticuerpos o fragmentos de éstos de acuerdo con la invención incluye la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 70. Los ejemplos específicos de la región variable de la cadena ligera comprendidos en los anticuerpos o fragmentos de éstos de acuerdo con la invención incluyen:

- (i) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 24,
- (ii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 25,
- (iii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 29,
- (iv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 30,
- (v) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 57,
- (vi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 58,
- (vii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 59,
- (viii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 60,
- (ix) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 61,
- (x) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 62,
- (xi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 63,
- (xii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 67,
- (xiii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 68,
- (xiv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 69,
- (xv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 70.

Otros ejemplos específicos de la región variable de la cadena ligera comprendida en los anticuerpos o fragmentos de éstos según la invención incluyen:

- (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 67:
- (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 68:
- (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 69: y
- (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 70.

Una parte correspondiente a una región constante de un anticuerpo está opcionalmente comprendida en los anticuerpos aislados específicos para MMP9, o fragmentos de unión al antígeno de éstos, de acuerdo con la invención.

Dependiendo de la función propuesta de los anticuerpos y, en particular las funciones efectoras que pueden ser necesarias, una región constante de un anticuerpo puede o no estar presente dentro de los anticuerpos de acuerdo con la invención.

Comúnmente, cuando están presentes dentro de los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de éstos, de acuerdo con la invención, la región constante de cadena pesada o porción de éstos puede ser de cualquier isotipo de anticuerpo. Por ejemplo, la región constante de la cadena pesada o porción de ésta puede ser la de un anticuerpo seleccionado de IgG (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgA (p. ej., IgA1, IgA2), IgD, IgE, IgM (p. ej., IgM1, IgM2). Puede ser, en particular, la región constante o porción de ésta de una IgG, más particularmente IgG4.

En particular, pueden utilizarse los dominios de la región constante de la IgG humana, en especial de los isotipos IgG1 y IgG3 cuando la molécula de anticuerpo está destinada para usos terapéuticos y se requieren funciones efectoras de anticuerpos. De otro modo, los isotipos IgG2 y IgG4 pueden utilizarse cuando la molécula de anticuerpo está destinada para propósitos terapéuticos y no se requieren funciones efectoras de anticuerpos, p. ej., para simplemente bloquear la actividad de MMP9.

Se apreciará que también se pueden utilizar variantes de secuencias de estos dominios de región constante. Por ejemplo, la región constante de cadena pesada o porción de ésta puede ser la de una variante manipulada de la IgG4 como puede ser una variante de la IgG4 que comprende S228P, R409K y una deleición de la lisina terminal, correspondiente a la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 40. Cuando está presente dentro de los anticuerpos fragmentos de unión al antígeno de éstos, de acuerdo con la invención, la región constante de cadena ligera o porción de ésta puede ser de cualquier región constante de cadena ligera. Por ejemplo, la región constante de cadena ligera o porción de ésta puede ser de la cadena ligera kappa o lambda.

En un aspecto particular de la invención, los anticuerpos específicos para MMP9, o fragmentos de unión al antígeno de éstos, comprenden: (i) al menos una cadena pesada que comprende una región variable como se describe en la presente y una región constante o porción de ésta de un anticuerpo IgG, y (ii) al menos una cadena ligera que comprende una región variable como se describe en la presente y una región constante o porción de ésta de una cadena ligera lambda (en particular lambda 2).

En una modalidad particular, la región constante o porción de ésta de la cadena pesada y/o de la cadena ligera, que está comprendida en los anticuerpos de acuerdo con la invención, tiene una secuencia de aminoácidos que ha sido modificada en comparación con su secuencia de aminoácidos original, de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica, para aumentar la estabilidad química de los anticuerpos, disminuir su agregación, aumentar su producción,

en particular en células productoras de anticuerpos (p. ej., células HEK293, células CHO), y/o eliminar su capacidad para intercambiar semi-moléculas que podrían dar como resultado eficazmente en anticuerpos monovalentes.

5 Los ejemplos de aminoácidos dentro de la secuencia de aminoácidos de la región constante de un anticuerpo que afecta la estabilidad del anticuerpo incluyen la mutación del aminoácido S228P (numeración UE) en la cadena pesada de la IgG4 humana que estabiliza el dominio bisagra del anticuerpo (*Angal et al, 1993, Molec. Immunol. 30: 105-108*) y evita las interacciones Fc-Fc (*Rispens et al., 2013, Mol. Immunol. 53: 35-42*), una Lys (K) en lugar de una Arg (R) en la posición alotípica 409 (numeración UE) que aumenta la fuerza de la interacción CH3-CH3 en la IgG4 (*Allberse et al, 2002, Immunology 105: 9-19*). Además, con el fin de simplificar la vigilancia de la heterogeneidad de la carga del anticuerpo monoclonal, puede eliminarse la lisina C-terminal de la cadena pesada de la IgG4 humana.

15 En otra modalidad, los anticuerpos específicos para MMP9, o fragmentos de unión al antígeno de éstos, de acuerdo con la invención comprenden al menos una cadena pesada que comprende una región variable como se describe en la presente y una región constante o porción de ésta de un anticuerpo IgG4, en donde la secuencia de aminoácidos de la región constante de la IgG4 comprende las siguientes modificaciones de aminoácidos: S228P (numeración UE), R409K (numeración UE), delección de Lys terminal (K), en donde dicha región constante modificada es representada por la ID SEC NO: 40.

20 En otra modalidad, los anticuerpos específicos para MMP9, o fragmentos de unión al antígeno de éstos, de acuerdo con la invención comprenden al menos una cadena ligera que comprende una región variable como se describe en la presente y una región constante o porción de ésta de un anticuerpo IgG4, en donde dicha región constante se representa por la ID SEC NO: 66.

25 En otra modalidad particular de la invención, dicha variante de CDR2 de la cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada entre: ID SEC NO: 5, ID SEC NO: 6, ID SEC NO: 7, ID SEC NO: 8 e ID SEC NO: 9.

En otra modalidad particular de la invención, dicha variante de CDR2 de la cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada entre: ID SEC NO: 49, ID SEC NO: 50 e ID SEC NO: 51.

30 En otra modalidad particular de la invención, dicha variante de CDR3 de la cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 10.

35 En otra modalidad particular de la invención, dicha variante de CDR3 de la cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 52.

Los anticuerpos de la invención tienen al menos un sitio de unión al antígeno, p. ej., uno o dos sitios de unión al antígeno. En ciertas modalidades, por ejemplo, para péptidos que comprenden CDR, un dominio variable puede contener solo las CDR ligadas a través de péptidos ligadores cortos en lugar de regiones marco completas.

40 En algunas modalidades, los anticuerpos aislados y fragmentos de unión al antígeno de éstos, de acuerdo con la invención, son glicosilados. Comúnmente, los monosacáridos como N-acetilglucosamina, manosa, glucosa, galactosa, fucosa, ácido siálico, etc., se ensamblan a oligosacáridos en sitios de glicosilación individuales en el anticuerpo.

45 En otra modalidad particular, la invención proporciona un anticuerpo aislado específico para MMP9, o un fragmento de unión al antígeno de éste, en donde dicho anticuerpo o fragmento de este comprende:

50 (i) una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 11, o una variante de la ID SEC NO: 11, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones en la secuencia de la ID SEC NO:11: N₅₄Q, N₅₄R, N₅₄K, N₅₄H, D₆₂E, S₆₃T, M₁₁₆I, D₈₈A y V₉₃L y

(ii) que comprende además una región variable de la cadena ligera seleccionada del siguiente grupo:

55 (1) la ID SEC NO: 24, o una variante de la ID SEC NO: 24, en donde el aminoácido en la posición 107 de la ID SEC NO:24 está sustituido con la sustitución: V₁₀₇L;

(2) la ID SEC NO: 67, o una variante de la ID SEC NO: 67, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de la siguiente sustitución en la secuencia de la ID SEC NO:67: V₄₅L, V₇₀A y V₁₀₇L;

60 (3) la ID SEC NO: 29, o una variante de la ID SEC NO: 29, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones en la secuencia de la ID SEC NO:29: R₈A, V₁₈I, L₄₉M, T₆₂N, L₈₁Q, y A₈₃E; y

65 (4) la ID SEC NO: 69, o una variante de la ID SEC NO: 69, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones en la secuencia de la ID SEC NO:69: R₈A, V₁₈I, L₄₉M, T₆₂N, L₈₁Q, A₈₃E y F₈₈Y.

En otra modalidad particular, la invención proporciona un anticuerpo aislado específico para MMP9, o un fragmento de unión al antígeno de éste, en donde una región variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

- 5 (i) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 12:
- (ii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 13:
- (iii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 14:
- (iv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 15:
- (v) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 16:
- 10 (vi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 17:
- (vii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 18:
- (viii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 19:
- (ix) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 20: y
- (x) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 11, y en donde una región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
- 15 (xi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 24;
- (xii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 25;
- (xiii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 29;
- (xiv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 30;
- 20 (xv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 57;
- (xvi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 58;
- (xvii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 59;
- (xviii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 60;
- (xix) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 61;
- 25 (xx) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 62:
- (xxi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 63;
- (xxii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 67;
- (xxiii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 68;
- (xxiv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 69: y
- 30 (xxv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 70.

En otra modalidad particular, la invención proporciona un anticuerpo aislado específico para MMP9, o un fragmento de unión al antígeno de éste, en donde una región variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos con (a), y una región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos con (b) seleccionados de las combinaciones del grupo que consiste en:

- 35 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 24, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20:
- (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 24, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56:
- 40 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 25, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20:
- (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 25, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56:
- 45 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 29, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20:
- (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 29, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56:
- (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 30, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20:
- 50 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 30, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56:
- (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 57, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20:
- 55 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 57, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56:
- (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 58, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20:
- (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 58, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56:
- 60 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 59, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20:
- (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 59, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56:
- 65 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 60, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20:
- (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 60, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO:

48, 53, 54, 55 y 56:

(b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 61, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20:

5 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 61, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56:

(b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 62, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20:

(b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 62, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56:

10 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 63, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20:

(b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 63, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56:

(b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 67, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20:

15 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 67, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56:

(b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 68, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20:

20 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 68, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56:

(b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 69, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20:

(b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 69, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56:

25 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 70, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20: y

(b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 70, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56.

30 Como comprenderá una persona experta en la técnica, un aspecto de la presente invención se refiere a anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos, que se caracterizan por algunas de las características descritas en la presente sin necesariamente comprender todas las dichas características.

35 Por ejemplo, en un aspecto, se proporcionan anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos que se caracterizan por cualquiera de las características descritas en la presente respecto a las secuencias de sus regiones variables y/o regiones constantes.

40 En una modalidad particular de dicho aspecto, dichos anticuerpos o fragmentos de éstos además se caracterizan por su unión a MMP9 interactuando con un epítipo sobre MMP9 como se describe en la presente, en particular un epítipo que comprende al menos un aminoácido dentro de una región que consiste en la ID SEC NO: 41, al menos un aminoácido dentro de una región que consiste en la ID SEC NO: 42, y al menos un aminoácido dentro de una región que consiste en la ID SEC NO: 43, localizado en el dominio catalítico de la MMP9 humana.

45 En un aspecto alternativo, se proporcionan anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos que se caracterizan por su unión a MMP9 mediante la interacción con un epítipo sobre MMP9 como se describe en la presente, en particular un epítipo que comprende al menos un aminoácido dentro de una región que consiste en la ID SEC NO: 41, al menos un aminoácido dentro de una región que consiste en la ID SEC NO: 42, y al menos un aminoácido dentro de una región que consiste en la ID SEC NO: 43, localizado en el dominio catalítico de la MMP9 humana.

50 En una modalidad particular de dicho aspecto alternativo, dichos anticuerpos o fragmentos de éstos además se caracterizan por cualquiera de las características descritas en la presente con respecto a las secuencias de sus regiones variables y/o regiones constantes.

55 *Ejemplos de anticuerpos específicos para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste*

Los ejemplos de anticuerpos y fragmentos de éstos de acuerdo con la invención, incluyen aquellos que comprenden los dominios variables que se indican en la Tabla 2 (véase también las Figuras 3, 4, 5).

60

65

Tabla 2

Nombre	Secuencia de la región variable de cadena pesada	Secuencia de la región variable de cadena ligera
F20-VH / B03-VL	ID SEC NO: 11	ID SEC NO: 24
F20-VH-GL1 / B03-VL	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 24
F20-VH-GL1-V1 / B03-VL	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 24
F20-VH-GL1-V4 / B03-VL	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 24
F20-VH-GL1-V9 / B03-VL	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 24
F20-VH-GL1-V14 / B03-VL	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 24
F20-VH-GL1-V1-V9 / B03-VL	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 24
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B03-VL	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 24
F20-VH-GL1-V4 -V9 / B03-VL	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 24
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B03-VL	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 24
F20-VH / B03-VL-GL1	ID SEC NO: 11	ID SEC NO: 25
F20-VH-GL1 / B03-VL-GL1	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 25
F20-VH-GL1-V1 / B03-VL-GL1	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 25
F20-VH-GL1-V4 / B03-VL-GL1	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 25

Nombre	Secuencia de la región variable de cadena pesada	Secuencia de la región variable de cadena ligera
F20-VH-GL1-V9 / B03-VL-GL1	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 25
F20-VH-GL1-V14 / B03-VL-GL1	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 25
F20-VH-GL1-V1-V9 / B03-VL-GL1	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 25
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B03-VL-GL1	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 25
F20-VH-GL1-V4-V9 / B03-VL-GL1	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 25
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B03-VL-GL1	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 25
F20-VH / B08-VL	ID SEC NO: 11	ID SEC NO: 29
F20-VH-GL1 / B08-VL	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 29
F20-VH-GL1-V1 / B08-VL	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 29
F20-VH-GL1-V4 / B08-VL	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 29
F20-VH-GL1-V9 / B08-VL	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 29
F20-VH-GL1-V14 / B08-VL	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 29
F20-VH-GL1-V1-V9 / B08-VL	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 29
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B08-VL	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 29
F20-VH-GL1-V4 -V9 / B08-VL	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 29
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B08-VL	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 29
F20-VH / B08-VL-GL6	ID SEC NO: 11	ID SEC NO: 30
F20-VH-GL1 / B08-VL-GL6	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 30
F20-VH-GL1-V1 / B08-VL-GL6	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 30
F20-VH-GL1-V4 / B08-VL-GL6	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 30
F20-VH-GL1-V9 / B08-VL-GL6	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 30
F20-VH-GL1-V14 / B08-VL-GL6	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 30
F20-VH-GL1-V1-V9 / B08-VL-GL6	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 30
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B08-VL-GL6	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 30
F20-VH-GL1-V4-V9 / B08-VL-GL6	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 30
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B08-VL-GL6	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 30
F20-VH-GL2/ B03-VL	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 24

Nombre	Secuencia de la región variable de cadena pesada	Secuencia de la región variable de cadena ligera
F20-VH-GL1-V2/ B03-VL	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 24
F20-VH-GL1-V3/ B03-VL	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 24
F20-VH-GL1-V11/ B03-VL	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 24
F20-VH-GL1-V13/ B03-VL	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 24
F20-VH-GL2/ B03-VL-GL1	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 25
F20-VH-GL1-V2/ B03-VL-GL1	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 25
F20-VH-GL1-V3/ B03-VL-GL1	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 25
F20-VH-GL1-V11/ B03-VL-GL1	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 25
F20-VH-GL1-V13/ B03-VL-GL1	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 25
F20-VH-GL2/ B08-VL	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 29
F20-VH-GL1-V2/ B08-VL	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 29
F20-VH-GL1-V3/ B08-VL	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 29
F20-VH-GL1-V11/ B08-VL	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 29
F20-VH-GL1-V13/ B08-VL	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 29
F20-VH-GL2/ B08-VL-GL6	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 30
F20-VH-GL1-V2/ B08-VL-GL6	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 30
F20-VH-GL1-V3/ B08-VL-GL6	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 30
F20-VH-GL1-V11/ B08-VL-GL6	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 30
F20-VH-GL1-V13/ B08-VL-GL6	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 30
F20-VH / B03-VL-GL2	ID SEC NO: 11	ID SEC NO: 57
F20-VH-GL1 / B03-VL-GL2	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 57
F20-VH-GL1-V1 / B03-VL-GL2	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 57
F20-VH-GL1-V4 / B03-VL-GL2	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 57
F20-VH-GL1-V9 / B03-VL-GL2	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 57
F20-VH-GL1-V14 / B03-VL-GL2	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 57
F20-VH-GL1-V1-V9 / B03-VL-GL2	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 57
F20-VH-GL1-V1-V9-V14/ B03-VL-GL2	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 57

ES 2 784 271 T3

Nombre	Secuencia de la región variable de cadena pesada	Secuencia de la región variable de cadena ligera
F20-VH-GL1-V4-V9 / B03-VL-GL2	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 57
F20-VH-GL1-V4-V9-V14/ B03-VL-GL2	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 57
F20-VH-GL2/ B03-VL-GL2	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 57
F20-VH-GL1-V2/ B03-VL-GL2	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 57
F20-VH-GL1-V3/ B03-VL-GL2	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 57
F20-VH-GL1-V11/ B03-VL-GL2	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 57
F20-VH-GL1-V13/ B03-VL-GL2	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 57
F20-VH / B08-VL-GL1	ID SEC NO: 11	ID SEC NO: 58
F20-VH-GL1 / B08-VL-GL1	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 58
F20-VH-GL1-V1 / B08-VL-GL1	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 58
F20-VH-GL1-V4 / B08-VL-GL1	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 58
F20-VH-GL1-V9 / B08-VL-GL1	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 58
F20-VH-GL1-V14 / B08-VL-GL1	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 58
F20-VH-GL1-V1-V9 / B08-VL-GL1	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 58
F20-VH-GL1-V1-V9-V14/ B08-VL-GL1	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 58
F20-VH-GL1-V4-V9 / B08-VL-GL1	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 58
F20-VH-GL1-V4-V9-V14/ B08-VL-GL1	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 58
F20-VH-GL2/ B08-VL-GL1	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 58
F20-VH-GL1-V2/ B08-VL-GL1	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 58
F20-VH-GL1-V3/ B08-VL-GL1	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 58
F20-VH-GL1-V11/ B08-VL-GL1	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 58
F20-VH-GL1-V13/ B08-VL-GL1	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 58
F20-VH / B08-VL-GL2	ID SEC NO: 11	ID SEC NO: 59
F20-VH-GL1 / B08-VL-GL2	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 59
F20-VH-GL1-V1 / B08-VL-GL2	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 59
F20-VH-GL1-V4 / B08-VL-GL2	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 59
F20-VH-GL1-V9 / B08-VL-GL2	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 59

ES 2 784 271 T3

Nombre	Secuencia de la región variable de cadena pesada	Secuencia de la región variable de cadena ligera
F20-VH-GL1-V14 / B08-VL-GL2	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 59
F20-VH-GL1-V1-V9 / B08-VL-GL2	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 59
F20-VH-GL1-V1-V9-V14/ B08-VL-GL2	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 59
F20-VH-GL1-V4-V9 / B08-VL-GL2	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 59
F20-VH-GL1-V4-V9-V14/ B08-VL-GL2	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 59
F20-VH-GL2/ B08-VL-GL2	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 59
F20-VH-GL1-V2/ B08-VL-GL2	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 59
F20-VH-GL1-V3/ B08-VL-GL2	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 59
F20-VH-GL1-V11/ B08-VL-GL2	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 59
F20-VH-GL1-V13/ B08-VL-GL2	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 59
F20-VH / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 11	ID SEC NO: 60
F20-VH-GL1 / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 60
F20-VH-GL1-V1 / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 60
F20-VH-GL1-V4 / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 60
F20-VH-GL1-V9 / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 60
F20-VH-GL1-V14 / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 60
F20-VH-GL1-V1-V9 / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 60
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 60
F20-VH-GL1-V4-V9 / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 60
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 60
F20-VH-GL2 / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 60
F20-VH-GL1-V2 / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 60
F20-VH-GL1-V3 / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 60
F20-VH-GL1-V11 / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 60
F20-VH-GL1-V13 / B08-VL-GL3	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 60
F20-VH / B08-VL-GL4	SEQ ID NO: 11	ID SEC NO: 61
F20-VH-GL1 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 61

ES 2 784 271 T3

Nombre	Secuencia de la región variable de cadena pesada	Secuencia de la región variable de cadena ligera
F20-VH-GL1-V1 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 61
F20-VH-GL1-V4 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 61
F20-VH-GL1-V9 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 61
F20-VH-GL1-V14 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 61
F20-VH-GL1-V1-V9 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 61
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 61
F20-VH-GL1-V4-V9 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 61
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 61
F20-VH-GL2 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 61
F20-VH-GL1-V2 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 61
F20-VH-GL1-V3 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 61
F20-VH-GL1-V11 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 61
F20-VH-GL1-V13 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 61
F20-VH / B08-VL-GL5	ID SEC NO: 11	ID SEC NO: 62
F20-VH-GL1 / B08-VL-GL5	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 62
F20-VH-GL1-V1 / B08-VL-GL5	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 62
F20-VH-GL1-V4 / B08-VL-GL5	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 62
F20-VH-GL1-V9 / B08-VL-GL5	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 62
F20-VH-GL1-V14 / B08-VL-GL5	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 62
F20-VH-GL1-V1-V9 / B08-VL-GL5	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 62
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B08-VL-GL5	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 62
F20-VH-GL1-V4-V9 / B08-VL-GL5	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 62
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B08-VL-GL5	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 62
F20-VH-GL2 / B08-VL-GL5	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 62
F20-VH-GL1-V2 / B08-VL-GL4	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 62
F20-VH-GL1-V3 / B08-VL-GL5	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 62
F20-VH-GL1-V11 / B08-VL-GL5	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 62

ES 2 784 271 T3

Nombre	Secuencia de la región variable de cadena pesada	Secuencia de la región variable de cadena ligera
F20-VH-GL1-V13 / B08-VL-GL5	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 62
F20-VH / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 11	ID SEC NO: 63
F20-VH-GL1 / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 63
F20-VH-GL1-V1 / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 63
F20-VH-GL1-V4 / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 63
F20-VH-GL1-V9 / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 63
F20-VH-GL1-V14 / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 63
F20-VH-GL1-V1-V9 / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 63
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 63
F20-VH-GL1-V4-V9 / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 63
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 63
F20-VH-GL2 / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 63
F20-VH-GL1-V2 / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 63
F20-VH-GL1-V3 / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 63
F20-VH-GL1-V11 / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 63
F20-VH-GL1-V13 / B08-VL-GL7	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 63
F20-VH / B03-VLc	ID SEC NO: 11	ID SEC NO: 67
F20-VH-GL1 / B03-VLc	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 67
F20-VH-GL1-V1 / B03-VLc	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 67
F20-VH-GL1-V4 / B03-VLc	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 67
F20-VH-GL1-V9 / B03-VLc	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 67
F20-VH-GL1-V14 / B03-VLc	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 67
F20-VH-GL1-V1-V9 / B03-VLc	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 67
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B03-VLc	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 67
F20-VH-GL1-V4 -V9 / B03-VLc	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 67
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B03-VLc	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 67
F20-VH / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 11	ID SEC NO: 68

Nombre	Secuencia de la región variable de cadena pesada	Secuencia de la región variable de cadena ligera
F20-VH-GL1 / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1-V1 / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1-V4 / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1-V9 / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1-V14 / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1-V1-V9 / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1-V4-V9 / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 68
F20-VH / B08-VLc	ID SEC NO: 11	ID SEC NO: 69
F20-VH-GL1 / B08-VLc	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 69
F20-VH-GL1-V1 / B08-VLc	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 69
F20-VH-GL1-V4 / B08-VLc	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 69
F20-VH-GL1-V9 / B08-VLc	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 69
F20-VH-GL1-V14 / B08-VLc	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 69
F20-VH-GL1-V1-V9 / B08-VLc	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 69
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B08-VLc	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 69
F20-VH-GL1-V4 -V9 / B08-VLc	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 69
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B08-VLc	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 69
F20-VH / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 11	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V1 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 13	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V4 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 14	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V9 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 15	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V14 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 16	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V1-V9 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 70

Nombre	Secuencia de la región variable de cadena pesada	Secuencia de la región variable de cadena ligera
F20-VH-GL1-V4-V9 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL2 / B03-VLc	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 67
F20-VH-GL1-V2 / B03-VLc	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 67
F20-VH-GL1-V3 / B03-VLc	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 67
F20-VH-GL1-V11 / B03-VLc	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 67
F20-VH-GL1-V13 / B03-VLc	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 67
F20-VH-GL2 / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1-V2 / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1-V3 / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1-V11 / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1-V13 / B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL2 / B08-VLc	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 69
F20-VH-GL1-V2 / B08-VLc	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 69
F20-VH-GL1-V3 / B08-VLc	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 69
F20-VH-GL1-V11 / B08-VLc	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 69
F20-VH-GL1-V13 / B08-VLc	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 69
F20-VH-GL2 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 48	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V2 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 53	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V3 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 54	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V11 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 55	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V13 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 56	ID SEC NO: 70

De este modo, en una modalidad específica, las proteínas de unión a MMP9 de acuerdo con la invención incluyen anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos, que comprenden:

5

(1) una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:

- (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 11
- (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 12
- (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 13
- (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 14
- (v) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 15
- (vi) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 16
- (vii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 17
- (viii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 18
- (ix) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 19

10

15

- (x) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 20
- (xi) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 48
- (xii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 53
- (xiii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 54
- (xiv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 55
- (xv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 56, y

- (2) una región variable de la cadena ligera seleccionada entre:
 - (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 24
 - (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 25
 - (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 29
 - (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 30
 - (v) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 57
 - (vi) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 58
 - (vii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 59
 - (viii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 60
 - (ix) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 61
 - (x) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 62
 - (xi) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 63
 - (xii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 67
 - (xiii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 68
 - (xiv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 69
 - (xv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 70.

De este modo, en una modalidad específica, las proteínas de unión a MMP9 de acuerdo con la invención incluyen anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos, que comprenden:

- (1) una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:
 - (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 11
 - (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 12
 - (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 13
 - (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 14
 - (v) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 15
 - (vi) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 16
 - (vii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 17
 - (viii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 18
 - (ix) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 19
 - (x) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 20
 - (xi) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 48
 - (xii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 53
 - (xiii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 54
 - (xiv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 55
 - (xv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 56, y

- (2) una región variable de la cadena ligera seleccionada entre:
 - (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 57
 - (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 58
 - (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 59
 - (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 60
 - (v) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 61
 - (vi) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 62
 - (vii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 63
 - (viii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 67
 - (ix) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 68
 - (x) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 69
 - (xi) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 70.

De este modo, en una modalidad específica, las proteínas de unión a MMP9 de acuerdo con la invención incluyen anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos, que comprenden:

- (1) una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:
 - (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 12
 - (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 17
 - (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 18
 - (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 19
 - (v) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 20, y

- (2) una región variable de la cadena ligera seleccionada entre:
 (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 68
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 70.

5 De este modo, en una modalidad específica, las proteínas de unión a MMP9 de acuerdo con la invención incluyen anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos, que comprenden:

- (1) una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:
 (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 12
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 18
 (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 20, y

- (2) una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 68.

15 De este modo, en una modalidad específica, las proteínas de unión a MMP9 de acuerdo con la invención incluyen anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos, que comprenden:

- (1) una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:
 (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 12
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 17
 (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 18
 (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 19
 (v) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 20, y

- (2) una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 70.

25 De este modo, en una modalidad específica, las proteínas de unión a MMP9 de acuerdo con la invención incluyen anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos, que comprenden:

- (1) una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:
 (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 11
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 12
 (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 13
 (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 14
 (v) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 15
 (vi) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 16

- (2) una región variable de la cadena ligera seleccionada entre:
 (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 24
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 25.

30 En otra modalidad específica, las proteínas de unión a MMP9 de acuerdo con la invención incluyen anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos, que comprenden:

- (1) una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:
 (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 12
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 17
 (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 18
 (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 19
 (v) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 20, y

- (2) una región variable de la cadena ligera seleccionada entre:
 (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 24
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 25.

35 Más particularmente, los anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos, de acuerdo con la invención, pueden comprender:

- (1) una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:
 (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 18
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 20, y

- (2) una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 25.

En otra modalidad particular, las proteínas de unión a MMP9 de acuerdo con la invención incluyen anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos, que comprenden:

(1) una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:

- 5 (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 11
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 12
 (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 13
 (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 14
 (v) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 15
 10 (vi) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 16, y

(2) una región variable de la cadena ligera seleccionada entre:

- (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 29
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 30

15 En otra modalidad específica, las proteínas de unión a MMP9 de acuerdo con la invención incluyen anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos, que comprenden:

(1) una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:

- 20 (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 12
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 17
 (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 18
 (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 19
 (v) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 20, y

25 (2) una región variable de la cadena ligera seleccionada entre:

- (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 29
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 30.

30 Más particularmente, los anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos de acuerdo con la invención pueden comprender:

(1) una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:

- 35 (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 17
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 18
 (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 19
 (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 20, y

(2) una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 30.

40 Más particularmente, los anticuerpos aislados específicos para MMP9 o fragmentos de unión al antígeno de éstos de acuerdo con la invención, pueden comprender una región variable de la cadena pesada de ID SEC NO: 19 y una región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 70.

45 *Conjugados que comprenden una molécula auxiliar*

En otro aspecto de la invención, los anticuerpos aislados o fragmento de unión al antígeno de éstos, de acuerdo con la invención, se conjugan opcionalmente a una molécula accesoria, y también se denominan en la presente como "anticuerpos conjugados" o "fragmentos de anticuerpos conjugados".

50 La molécula accesoria puede ser conjugada al anticuerpo o fragmento de anticuerpo directamente o a través de un espaciador de longitud adecuada, por ejemplo, como se describe en *Kellogg et al., 2011, Bioconjug Chem, 22: 717-27*.

55 En una modalidad, particularmente adaptada para propósitos terapéuticos, la molécula accesoria puede ser un grupo efecto terapéutico como puede ser un agente citotóxico (p. ej., una toxina enzimáticamente activa de origen bacteriano, micótico, vegetal o animal, o fragmento de ésta), citostático, o inmunomodulador, incluyendo grupos radioactivos (es decir, grupos que comprenden un radionúclido o radioisótopo), o moléculas pequeñas.

60 En otra modalidad, la molécula accesoria comprende un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo, que, cuando se conjugua al anticuerpo o fragmento de anticuerpo de acuerdo con la invención, forma un anticuerpo biespecífico. En particular, dicho anticuerpo biespecífico puede ser dirigido a dos diferentes MMP o a dos epítomos diferentes de un MMP como puede ser dos epítomos diferentes de MMP9.

65 En una modalidad específica, la molécula accesoria puede ser, por ejemplo, un agente activo para el tratamiento de una enfermedad, como puede ser, para el tratamiento de enfermedad de Crohn: la región variable de un anticuerpo

anti-TNF α , que, cuando se conjuga a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención puede formar anticuerpos anti-TNF α /MMP9 bi-específicos para el tratamiento de individuos que padecen de enfermedad de Crohn moderada a grave.

5 Los anticuerpos conjugados y fragmentos de anticuerpos conjugados de acuerdo con la invención, pueden dirigir el fármaco *in vivo* a un sitio de enfermedad (p. ej., un sitio de inflamación o un tumor) de tal manera que la molécula auxiliar conjugada pueda tener un efecto terapéutico en el sitio de la enfermedad.

10 En una modalidad alternativa, particularmente adaptada para propósitos de diagnóstico, la molécula accesoria puede ser, por ejemplo, un grupo etiquetador que incluye radioisótopos (p. ej., ³H, ¹⁴C, ³²P, ³⁵S, ¹²⁵I), etiquetas cromogénicas, p. ej., enzimas que pueden utilizarse para convertir un sustrato en un compuesto de color detectable (p. ej., peroxidasa de rábano, fosfatasa alcalina, β -galactosidasa) o fluorescente (p. ej., proteína fluorescente verde, proteína fluorescente roja), etiquetas espectroscópicas (p. ej., etiquetas fluorescentes como puede ser fluoresceína y sus derivados como FITC, rojo Texas, colorantes de cianina, fotocyan (sic), rodamina, o etiquetas que presentan un color visible), etiquetas luminiscentes que incluyen luciferinas, etiquetas de afinidad que pueden ser desarrolladas por otro compuesto específico para la etiqueta y que permite la fácil detección y cuantificación, o cualquier otra etiqueta utilizada en ELISA normal.

20 **Ácidos nucleicos que codifican los polipéptidos de la invención**

De acuerdo con otra modalidad, se proporciona una molécula de ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención. El ácido nucleico aislado de acuerdo con la invención puede ser, por ejemplo, DNA o RNA natural o un DNA, RNA o LNA recombinante o sintético o una molécula de ácido nucleico recombinante que comprende cualquiera de las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la invención ya sea sola o en combinación. En una modalidad particular, las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la invención son cDNA.

En una modalidad particular, se proporciona un ácido nucleico aislado que comprende uno o más de:

- 30 (1) una secuencia de ácido nucleico que codifica una CDR1 de la cadena pesada de ID SEC NO: 2, una CDR2 de la cadena pesada de ID SEC NO: 3, una CDR3 de la cadena pesada de ID SEC NO: 4, o una variante de ésta, en donde 1, 2 o 3 aminoácidos de dicha CDR de cadena pesada se sustituyen por un aminoácido diferente, y
- 35 (2) (i) un ácido nucleico que codifica una CDR1 de la cadena ligera de ID SEC NO: 21, una CDR2 de la cadena ligera de ID SEC NO: 22, una CDR3 de la cadena ligera de ID SEC NO: 23, o una variante de ésta, en donde 1, 2 o 3 aminoácidos de dicha CDR de cadena ligera se sustituyen por un aminoácido diferente, o
- 40 (2) (ii) un ácido nucleico que codifica una CDR1 de la cadena ligera de ID SEC NO: 26, una CDR2 de la cadena ligera de ID SEC NO: 27, una CDR3 de la cadena ligera de ID SEC NO: 28, o una variante de ésta, en donde 1, 2 o 3 aminoácidos de dicha CDR de cadena ligera se sustituyen por un aminoácido diferente.

En una modalidad particular, se proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una o más de:

- 45 (1) una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:
- (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 11
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 12
 (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 13
 (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 14
 50 (v) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 15
 (vi) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 16
 (vii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 17
 (viii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 18
 (ix) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 19
 55 (x) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 20
 (xi) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 48
 (xii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 53
 (xiii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 54
 (xiv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 55
 60 (XV) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 56

(2) una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de la cadena ligera seleccionada entre:

- 65 (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 24
 (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 25

- (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 29
- (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 30
- (v) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 57
- (vi) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 58
- (vii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 59
- (viii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 60
- (ix) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 61
- (x) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 62
- (xi) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 63
- (xii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 67
- (xiii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 68
- (xiv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 69
- (xv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 70.

- 5
- 10
- 15 En una modalidad particular, se proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una o más de:
- (1) una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:
 - (i) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 11,
 - (ii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 12
 - (iii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 13
 - (iv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 14
 - (v) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 15
 - (vi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 16, y
 - (2) una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de la cadena ligera seleccionada entre:
 - (i) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 24
 - (ii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 25.
- 20
- 25
- 30 En una modalidad particular alternativa, la invención proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una o más de:
- (1) una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:
 - (i) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 12
 - (ii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 17
 - (iii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 18
 - (iv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 19
 - (v) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 20, y
 - (2) una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de la cadena ligera de la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 25.
- 35
- 40

En otra modalidad particular, se proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una o más de:

- 45
- (1) una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:
 - (i) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 11
 - (ii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 12
 - (iii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 13
 - (iv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 14
 - (v) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 15
 - (vi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 16, y
 - (2) una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de la cadena ligera seleccionada entre:
 - (i) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 29
 - (ii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 30.
- 50
- 55

En una modalidad particular alternativa, se proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una o más de:

- 60
- (1) una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de la cadena pesada seleccionada entre:
 - (i) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 12
 - (ii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 17
 - (iii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 18
 - (iv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 19
 - (v) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 20, y
- 65

(2) una secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de la cadena ligera de la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 30.

5 En otra modalidad particular, se proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una o más de:

(1) una secuencia de ácido nucleico que comprende la ID SEC NO: 31, ID SEC NO: 32 e ID SEC NO: 33, o una variante de éstas que tiene al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% de identidad con una de dichas secuencias, y/o

10 (2) una secuencia de ácido nucleico seleccionada de:
 a) una secuencia de ácido nucleico que comprende la ID SEC NO: 34, ID SEC NO: 35 e ID SEC NO: 36, o una variante de éstas que tiene al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% de identidad con una de dichas secuencias,
 15 b) una secuencia de ácido nucleico que comprende la ID SEC NO: 37, ID SEC NO: 38, ID SEC NO: 39, o una variante de éstas que tiene al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% de identidad con una de dichas secuencias.

20 **Vectores y células huésped para la producción y purificación de los polipéptidos de la invención**

En una modalidad, la invención proporciona un vector de expresión recombinante que comprende una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la invención, en donde el vector opcionalmente comprende una secuencia de control de expresión, permitiendo la expresión en células huésped procariontas o eucariotas del polipéptido codificado, ligado de manera operable a dicha molécula de ácido nucleico.

25 Pueden utilizarse numerosos sistemas de expresión, incluyendo, sin limitación, cromosomas, episomas y virus derivados. Más particularmente, los vectores recombinantes utilizados pueden ser obtenidos de plásmidos bacterianos, transposones, episomas de levadura, elementos de inserción, elementos de cromosoma de levadura, virus como baculovirus, virus de papiloma como puede ser SV40, virus vaccinia, adenovirus, virus de viruela, virus de pseudorrabia, retrovirus. Estos vectores recombinantes pueden ser igualmente cósmidos o derivados fagémidos.

30 La secuencia de ácido nucleico puede ser insertada en el vector de expresión recombinante mediante métodos bien conocidos para una persona experta en la técnica como puede ser, por ejemplo, aquellos que se describen en MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Sambrook et al, 4a Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001. El vector recombinante puede incluir secuencias de nucleótidos que permiten, controlan o regulan la expresión y la transcripción de un polinucleótido de la invención así como la traducción de un polipéptido de la invención, estas secuencias siendo seleccionadas de acuerdo con las células huésped que se utilizan.

35 Así, por ejemplo, una señal de secreción apropiada puede ser integrada en el vector recombinante de manera que el polipéptido, codificado por la molécula de ácido nucleico de la invención, se dirigirá hacia el lumen del retículo endoplásmico, hacia el espacio periplásmico, sobre la membrana o hacia el medio extracelular. La elección de una señal de secreción apropiada puede facilitar la posterior purificación de proteínas. En otra modalidad, se proporciona una célula huésped que comprende un vector recombinante de acuerdo con la invención.

40 La introducción del vector recombinante en una célula huésped se puede llevar a cabo de acuerdo con los métodos que son bien conocidos para una persona experta en la técnica, como pueden ser los descritos en BASIC METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, Davis et al, 2a ed., McGraw-Hill Professional Publishing, 1995, y MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, supra, como puede ser transfección por fosfato de calcio, transfección por dextrano DEAE, transfección, microinyección, transfección por lípidos catiónicos, electroporación, transducción o infección.

45 La célula huésped puede ser, por ejemplo, células bacterianas como *E. coli* o *Streptomyces*, células de hongos como *Aspergillus* y levaduras como *Saccharomyces*, células de insecto, células de ovario de hámster Chino (CHO), línea de celular de ratón C127, línea celular BHK de células de hámster Sirio, células de riñón embrionario humano 293 (HEK 293). En una modalidad particular, la célula huésped es una célula CHO o una célula HEK 293.

50 Las células huésped pueden utilizarse, por ejemplo, para expresar un polipéptido de la invención. Después de la purificación mediante métodos normales, el polipéptido de la invención puede utilizarse en un método descrito a continuación.

55 Por ejemplo, cuando se emplean sistemas de expresión que secretan la proteína recombinante, el medio de cultivo puede concentrarse primero utilizando un filtro de concentración de proteínas disponible en el comercio, por ejemplo, una unidad de ultrafiltración Amicon o Millipore Pellicon. Después del paso de concentración, el concentrado puede ser aplicado a una matriz de purificación como puede ser una matriz de filtración en gel. De otro modo, puede emplearse una resina de intercambio aniónico y/o de afinidad. Las matrices pueden ser acrilamida, agarosa,

60

dextrano, celulosa u otros tipos comúnmente empleados en la purificación de proteínas. Alternativamente, puede emplearse una etapa de intercambio catiónico. Por último, se pueden emplear uno o más pasos de cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa (RP-HPLC) que emplean medios RP-HPLC hidrófobos para purificar adicionalmente los anticuerpos o fragmentos de éstos. Algunos o todos los pasos de purificación anteriores, en diversas combinaciones, son bien conocidos y pueden emplearse para proporcionar una proteína recombinante considerablemente homogénea.

La proteína recombinante producida en cultivo bacteriano puede ser aislada por disrupción inicial de las células huésped, centrifugación, extraídas a partir de pellets celulares si es un polipéptido insoluble, o de fluido sobrenadante si es un polipéptido soluble, seguido por uno o más pasos de concentración, desalación, intercambio iónico, purificación por afinidad o cromatografía por exclusión de tamaño. Las células microbianas se pueden romper mediante cualquier método conveniente, incluyendo ciclos de congelación-descongelación, sonicación, disrupción mecánica, o uso de agentes de lisis celular.

En otra modalidad, la célula huésped invención puede usarse para producir células capaces de expresar un polipéptido de acuerdo con la invención, que comprenden células genéticamente manipuladas con un vector o un ácido nucleico de acuerdo con la invención.

En otra modalidad, el ácido nucleico de la invención puede usarse en un proceso para producir anticuerpos o fragmentos de éstos de acuerdo con la invención, que comprende cultivar una célula huésped transformada con un vector de expresión que comprende una secuencia nucleica que codifica dichos anticuerpos o fragmentos de éstos en condiciones suficientes para promover la expresión de dichos polipéptidos. El anticuerpo o fragmento de éste de acuerdo con la invención, es entonces recuperado del medio de cultivo o extractos celulares, dependiendo del sistema de expresión empleado. Como es conocido por un experto en la técnica, los procedimientos para la purificación de una proteína recombinante variarán de acuerdo con tales factores como el tipo de células huésped empleadas y si la proteína recombinante es secretada o no en el medio de cultivo como ya se describió.

Composiciones

La invención proporciona agentes farmacéuticos o terapéuticos como composiciones y métodos para tratar un paciente, preferentemente un paciente mamífero, y más preferentemente un paciente humano que padece de un trastorno médico, y en particular una enfermedad inflamatoria y/o autoinmune o un cáncer. Alternativamente, la invención proporciona métodos para prevenir un trastorno médico, y en particular una enfermedad inflamatoria y/o autoinmune o un cáncer.

En una modalidad, se proporciona una composición farmacéutica que comprende uno o más de: (i) un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención, (ii) un ácido nucleico de acuerdo con la invención, (iii) un vector de acuerdo con la invención, y/o (iv) una célula huésped de acuerdo con la invención, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener uno o más anticuerpos específicos para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste en cualquier forma descrita en la presente. Las composiciones de esta invención además pueden comprender uno o más ingrediente(s) adicional(es) aceptable(s) como puede ser alumbre, estabilizadores, agentes antimicrobianos, amortiguadores, agentes colorantes, agentes saborizantes, adyuvantes, y similares.

Los compuestos de la invención, junto con un adyuvante, portador, diluyente o excipiente convencionalmente empleado pueden ser colocados en la forma de composiciones farmacéuticas y dosificaciones unitarias de éstas, y en tal forma pueden ser empleados como sólidos, tales como tabletas o cápsulas rellenas, formas liofilizadas, o líquidos como pueden ser soluciones, suspensiones, emulsiones, elixires o cápsulas llenadas con el mismo, todas para uso oral, o en la forma de soluciones inyectables estériles para uso parenteral (incluido el subcutáneo). Tales composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitaria de éstas pueden comprender ingredientes en proporciones convencionales, con o sin compuestos o principios activos adicionales, y tales formas de dosificación unitaria pueden contener cualquier cantidad eficaz adecuada del ingrediente activo proporcional con el intervalo de dosificación diaria propuesto que se va a emplear.

Las composiciones de esta invención pueden ser formulaciones líquidas que incluyen, más no se limitan a, suspensiones acuosas u oleosas, soluciones, emulsiones, jarabes y elixires. Las formas líquidas adecuadas para administración oral pueden incluir un vehículo adecuado acuoso o no acuoso con amortiguadores, agentes de suspensión y dispensación, colorantes, saborizantes y similares. Las composiciones también pueden ser formuladas como un producto seco para reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Tales preparaciones líquidas pueden contener aditivos que incluyen, más no se limitan a, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, vehículos no acuosos y preservadores. El agente de suspensión incluye, más no se limita a, jarabe de sorbitol, metilcelulosa, jarabe de glucosa/azúcar, gelatina, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, gel de estearato de aluminio y grasas comestibles hidrogenadas. Los agentes emulsionantes incluyen, más no se limitan a, lecitina, monooleato de sorbitan, y acacia. Los vehículos no acuosos incluyen, más no se limitan a, aceites

comestibles, aceite de almendras, aceite de coco fraccionado, ésteres oleosos, propilen glicol y alcohol etílico. Los preservadores incluyen, más no se limitan a, p-hidroxibenzoato de metilo o propilo y ácido sórbico. Otros materiales, así como técnicas de procesamiento, y similares, se establecen en la Parte 5 de *Remington's The Science and Practice of Pharmacy, 22a Edición, 2012, Pharmaceutical Press and the University of the Sciences, Philadelphia College of Pharmacy.*

Las composiciones sólidas de esta invención pueden estar en la forma de tabletas o pastillas formuladas en una manera tradicional. Por ejemplo, las tabletas y cápsulas para administración oral pueden contener excipientes tradicionales que incluyen, más no se limitan a, agentes aglutinantes, cargas, lubricantes, desintegrantes y agentes humectantes. Los agentes aglutinantes incluyen, más no se limitan a, jarabe, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto, mucílago de almidón y polivinilpirrolidona. Los materiales de carga incluyen, más no se limitan a, lactosa, azúcar, celulosa microcristalina, almidón de maíz, fosfato de calcio y sorbitol. Los lubricantes incluyen, más no se limitan a, estearato de magnesio, ácido esteárico, talco, polietilen glicol y sílice. Los desintegrantes incluyen, más no se limitan a, almidón de papa y glicolato almidón de sodio. Los agentes humectantes incluyen, más no se limitan a, lauril sulfato de sodio. Las tabletas pueden ser recubiertas de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica.

Las composiciones inyectables comúnmente se basan en salina estéril inyectable o salina amortiguada con fosfato u otros portadores inyectables conocidos en la técnica.

Las composiciones de esta invención también pueden ser formuladas como formulaciones transdérmicas que comprenden vehículos acuosos o no acuosos que incluyen, más no se limitan a, cremas, ungüentos, lociones, pastas, yeso medicado, parche o membrana.

Las composiciones de esta invención también pueden ser formuladas para administración parenteral que incluye, más no se limita a, inyección o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden estar en la forma de suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación que incluyen, más no se limitan a, agentes de suspensión, de estabilización y de dispersión. La composición también puede ser proporcionada en una forma de polvo para reconstitución con un vehículo adecuado que incluye, más no se limita a, agua libre de pirógenos, estéril.

Las composiciones de esta invención también pueden ser formuladas como una preparación de depósito, que puede ser administrada mediante implantación o por inyección intramuscular. Las composiciones pueden ser formuladas con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (como una emulsión en un aceite aceptable, por ejemplo), resinas de intercambio iónico, o como derivados escasamente solubles (como una sal escasamente soluble, por ejemplo).

Los compuestos de esta invención también pueden ser administrados en formas de liberación sostenida o de sistemas de suministro de fármacos de liberación sostenida. Una descripción de materiales representativos de liberación sostenida también pueden encontrarse en *Remington's Pharmaceutical Sciences.*

Las formulaciones inyectables son particularmente apropiadas para administrar las composiciones de acuerdo con la invención.

En otra modalidad, la invención proporciona una composición de imagenología o composición de diagnóstico que comprende un anticuerpo específico para MMP9 o un fragmento de unión al antígeno de éste como se describe en la presente.

En otra modalidad, el anticuerpo de la invención proporciona una composición de diagnóstico que comprende un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste como se describe en la presente para la detección de MMP9 activa en los individuos.

En otra modalidad, una composición de diagnóstico que comprende un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste como se describe en la presente puede usarse para detección de MMP9 activa en individuos, en donde dicho anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de ID SEC NO: 19 y una región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 70.

En una modalidad, las composiciones de diagnóstico pueden comprender un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste como se describe en la presente, conjugado a una porción seleccionada del grupo que consiste en un radioisótopo, una biotina, una avidina, una estreptavidina, un cromóforo, un fluoróforo, una porción quimioluminiscente, un hapteno y una enzima.

Las composiciones de imagenología o composiciones de diagnóstico de acuerdo con la invención son útiles para detectar niveles elevados de MMP9 asociados con enfermedades inflamatorias y/o autoinmunes o cánceres.

Combinación

De acuerdo con la invención, un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención puede ser administrado solo o en combinación con un co-agente útil en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad inflamatoria y/o autoinmune, por ejemplo, fármacos inmuno moduladores que incluyen productos biológicos, moléculas pequeñas y vacunas.

De otro modo, un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención, puede ser administrado o en combinación [sic] con un co-agente útil en el tratamiento de cáncer, por ejemplo, un fármaco anti-canceroso como pueden ser fármacos citotóxicos (Folfox, Xelox, Folfirinox, Folfox6, capecitabina, docetaxel (Taxotere), paclitaxel (Taxol), Nab/paclitaxel, 5-fluorouracilo (5-FU), 6-mercaptopurina (6-MP), Capecitabina (Xeloda), Citarabina (Ara-C), Floxuridina, Fludarabina, Gemcitabina (Gemzar), Gemcitabina-Cisplatino, Hidroxiurea, Metotrexato, Pemetrexed (Alimta), ixabepilona (Ixempra), vinblastina (Velban), vincristina (Oncovin), y vinorelbina (Navelbine), Estramustina (Emcyt)), inhibidores de tirosina cinasa (imatinib (Gleevec/Glivec), o gefitinib (Iressa), o erlotinib (Tarceva), Afatinib (Giotrif), Axitinib (Inlyta), Bosutinib (Bosulif), Crizotinib (Xalkori), Dasatinib (Sprycel), Lapatinib (Tyverb), Nilotinib (Tasigna), Pazopanib (Votrient), Sorafenib (Nexavar), Sunitinib (Sutent)) y anticuerpos terapéuticos como puede ser trastuzumab (Herceptin), Bevacizumab (Avastin), Cetuximab (Erbix), Panitumumab (Vectibix), Pertuzumab (Perjeta), ipilimumab (Yervoy), nivolumab (Opdivo) y pembrolizumab (Keytruda) o anticuerpo anti-CD20 rituximab (Rituxan).

Un anticuerpo de la invención o fragmento de éste puede ser administrado a un individuo antes de, al mismo tiempo o en secuencia con otros regímenes terapéuticos o co-agentes útiles en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad relacionada con MMP9 seleccionada del grupo que consiste en enfermedades inflamatorias y autoinmunes, enfermedades inflamatorias del intestino, cánceres o tumores, enfermedades fibróticas, enfermedades cardiovasculares, trastornos neurológicos, enfermedades oculares, o cualquier otra enfermedad o trastorno relacionado con MMP9, en una cantidad terapéutica eficaz. El anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención que se administra al mismo tiempo con dichos co-agentes puede ser administrado en la misma composición o diferente y en las mismas o diferentes vías de administración.

En una modalidad particular, un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención puede ser administrado en combinación con un anticuerpo anti-TNF α para el tratamiento de individuos que padecen de enfermedad de Crohn moderada a grave.

Modo de administración

Las composiciones de esta invención pueden ser administradas en cualquier forma que incluye, más no se limita a, vía oral, parenteral, sublingual, transdérmica, rectal, transmucosa, tópica, a través de inhalación, a través de administración bucal o intranasal o intravesical, o combinaciones de éstas.

La administración parenteral incluye, más no se limita a, intravenosa, intra-arterial, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, intra-tecal e intra-articular. Las composiciones de esta invención también pueden ser administradas en la forma de un implante, que permita la liberación lenta de las composiciones así como una infusión i.v. lenta, controlada. En una modalidad particular, un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención se administra sistémica o localmente.

En una modalidad particular, un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención se administra mediante la vía subcutánea o intravenosa.

La dosificación administrada, como dosis única o múltiple, a un individuo variará dependiendo de una variedad de factores, incluyendo las propiedades farmacocinéticas, estado y características del paciente (sexo, edad, peso corporal, salud, talla), grado de los síntomas, tratamientos concurrentes, frecuencia del tratamiento y el efecto deseado.

Comúnmente, las cantidades terapéuticamente eficaces de un anticuerpo farmacéutico activo abarcan dosis desde 1 mg hasta 150 mg/kg de peso corporal. Si el régimen es una infusión continua, puede estar en el intervalo de 0.250 mg a 20 mg por kg de peso corporal.

En particular, las cantidades terapéuticas eficaces de un anticuerpo farmacéutico activo abarcan dosis desde 1 mg hasta 50 mg/kg de peso corporal. Si el régimen es una infusión continua, puede estar en el intervalo de 0.250 mg a 13 mg por kg de peso corporal.

Pacientes

Comúnmente, los pacientes de acuerdo con la invención son pacientes que padecen de una enfermedad relacionada con MMP9, en particular una enfermedad relacionada con MMP9 seleccionada del grupo que consiste en enfermedades inflamatorias y autoinmunes, cánceres o tumores, enfermedades pulmonares, enfermedades pulmonares fibróticas, septicemia, distrofia muscular, alergia, fibrosis renal, esclerodermia, miocardiopatía dilatada, enfermedad de Chagas, enfermedades cardiovasculares, trastornos neuropsiquiátricos, diabetes y enfermedades

5 oculares, o cualquier otra enfermedad o trastorno relacionado con MMP9. En una modalidad, los pacientes de acuerdo con la invención, son pacientes que padecen de una enfermedad inflamatoria y/o autoinmune que incluye, por ejemplo, enfermedades inflamatorias del intestino (IBD) incluida la enfermedad de Crohn (CD), colitis ulcerosa (UC), colitis indeterminada, colitis colágena, artritis reumatoide (RA), esclerosis múltiple (MS), lupus eritematoso sistémico (SLE), síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica, polimiositis, aterosclerosis.

10 En una modalidad particular, los pacientes de acuerdo con la invención, son pacientes que padecen de enfermedad inflamatoria del intestino, más particularmente complicaciones penetrantes y constrictivas de la enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa.

15 En otra modalidad, los pacientes de acuerdo con la invención, son pacientes que padecen de una enfermedad pulmonar que incluye asma, enfermedades pulmonares fibróticas como puede ser pulmonar idiopática, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), o una enfermedad seleccionada de septicemia, distrofia muscular, alergia, fibrosis renal, esclerodermia, miocardiopatía dilatada, enfermedad de Chagas, enfermedades cardiovasculares, trastornos neuropsiquiátricos, diabetes y enfermedades oculares.

20 En otra modalidad, los pacientes de acuerdo con la invención, son pacientes que padecen de un cáncer o tumor que incluye, por ejemplo, cáncer hematopoyético, cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de cabeza y cuello, cáncer pancreático, cáncer pulmonar, cáncer de ovario, cáncer de vejiga urinaria, cáncer de hígado, melanoma, cáncer de próstata, cáncer muscular, cáncer mesenquimal, adenocarcinoma esofagogástrico, cáncer de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de células escamosas de pulmón, adenocarcinoma de pulmón, adenocarcinoma gástrico, adenocarcinoma pancreático y carcinoma hepatocelular.

25 En una modalidad particular, los pacientes de acuerdo con la invención, son pacientes que padecen de cáncer colorrectal o adenocarcinoma.

30 En otra modalidad, los pacientes de acuerdo con la invención, son pacientes que padecen de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en enfermedades inflamatorias y autoinmunes, enfermedades inflamatorias del intestino, cánceres o tumores, enfermedades fibróticas, enfermedades cardiovasculares, trastornos neuropsiquiátricos o enfermedades oculares.

35 En otra modalidad, los pacientes de acuerdo con la invención, son pacientes que padecen de enfermedades fibróticas, por ejemplo, esclerosis sistémica, fibroesclerosis multifocal, enfermedad esclerodermatosa injerto contra huésped en receptores de trasplante de médula ósea, fibrosis sistémica nefrogénica, fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, mielofibrosis y lupus eritematoso sistémico.

40 En otra modalidad, los pacientes de acuerdo con la invención, son pacientes que padecen de enfermedades oculares, por ejemplo, patologías fibróticas del cristalino, enfermedades de la córnea, retinopatía diabética, degeneración macular relacionada con la edad, "seca" o "húmeda", vitreorretinopatía proliferativa, formación de cataratas, pterigión, queratocono, degeneración macular relacionada con la edad y retinopatía diabética.

45 En otra modalidad, los pacientes de acuerdo con la invención, son pacientes que padecen de enfermedades cardiovasculares, por ejemplo, hipertensión, aterosclerosis, infarto de miocardio, insuficiencia cardiaca o enfermedad de arteria coronaria, hipertensión, hipertensión pulmonar, enfermedad de la válvula pulmonar o tricúspide, enfermedad de la válvula aórtica y mitral, coartación de aorta, aterosclerosis, infarto de miocardio, insuficiencia cardiaca, cardiomiopatía isquémica, miocardiopatía dilatada, arritmia crónica, fibrosis cardiaca y enfermedad de arteria coronaria.

50 En otra modalidad, los pacientes de acuerdo con la invención, son pacientes que padecen de trastornos neurológicos, por ejemplo, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, inflamación neuronal, isquemia cerebral y dolor neuropático.

55 ***Usos y métodos de acuerdo con la invención***

60 El anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste, los ácidos nucleicos, los vectores, las células huésped, las composiciones de acuerdo con la invención son para uso en el diagnóstico, prevención o tratamiento de trastornos asociados con, provocados por, o acompañados por niveles elevados de MMP9 y/o actividad elevada de MMP9.

65 En una modalidad se proporciona un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención para uso como un medicamento.

Otra modalidad proporciona un anticuerpo o fragmento de éste de acuerdo con la invención para uso en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad relacionada con MMP9 seleccionada del grupo que consiste en enfermedades inflamatorias y autoinmunes, cánceres o tumores, enfermedades pulmonares, enfermedades

pulmonares fibróticas, septicemia, distrofia muscular, alergia, fibrosis renal, esclerodermia, miocardiopatía dilatada, enfermedad de Chagas, enfermedades cardiovasculares, trastornos neuropsiquiátricos, diabetes y enfermedades oculares, o cualquier otra enfermedad o trastorno relacionado con MMP9.

5 Otra modalidad proporciona un anticuerpo o fragmento de éste de acuerdo con la invención, para uso en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad relacionada con MMP9 seleccionada del grupo que consiste en enfermedades inflamatorias y autoinmunes, enfermedades inflamatorias del intestino, cánceres o tumores, enfermedades fibróticas, enfermedades cardiovasculares, trastornos neuropsiquiátricos o enfermedades oculares.

10 Otra modalidad particular proporciona un anticuerpo o fragmento de éste de acuerdo con la invención para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad seleccionada de enfermedades inflamatorias y autoinmunes, enfermedades inflamatorias del intestino, cánceres o tumores, enfermedades fibróticas, enfermedades cardiovasculares, trastornos neurológicos u enfermedades oculares.

15 Otra modalidad particular proporciona un anticuerpo o fragmento de éste de acuerdo con la invención para uso en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad inflamatoria y/o autoinmune, en particular enfermedades inflamatorias del intestino (IBD) incluida la enfermedad de Crohn (CD), colitis ulcerosa (UC), colitis indeterminada, colitis colágena, artritis reumatoide (RA), esclerosis múltiple (MS), lupus eritematoso sistémico (SLE), síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica, polimiositis, aterosclerosis.

20 Otra modalidad particular proporciona un anticuerpo o fragmento de éste de acuerdo con la invención para uso en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad pulmonar que incluye asma, enfermedades pulmonares fibróticas como puede ser pulmonar idiopática, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), o una enfermedad seleccionada de septicemia, distrofia muscular, alergia, fibrosis renal, esclerodermia, miocardiopatía dilatada, enfermedad de Chagas, enfermedades cardiovasculares, trastornos neuropsiquiátricos, diabetes y enfermedades oculares.

25 Todavía otra modalidad particular proporciona un anticuerpo o fragmento de éste de acuerdo con la invención para uso en la prevención y/o tratamiento de un cáncer o tumor, en particular un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cáncer hematopoyético, cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer de vejiga urinaria, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, melanoma, cáncer de próstata, cáncer muscular, cáncer mesenquimal, adenocarcinoma esofagogástrico, cáncer de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de células escamosas de pulmón, adenocarcinoma de pulmón, adenocarcinoma gástrico, adenocarcinoma pancreático, carcinoma hepatocelular, más particularmente, cáncer o adenocarcinoma colorrectal.

30 Todavía otra modalidad particular proporciona un anticuerpo o fragmento de éste de acuerdo con la invención para uso en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad fibrótica, en particular esclerosis sistémica, fibroesclerosis multifocal, enfermedad esclerodermatosa injerto contra huésped en receptores de trasplante de médula ósea, fibrosis sistémica nefrogénica, fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, mielofibrosis y lupus eritematoso sistémico.

35 Todavía otra modalidad particular proporciona un anticuerpo o fragmento de éste de acuerdo con la invención para uso en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad ocular, en particular patologías fibróticas del cristalino, enfermedades de la córnea, retinopatía diabética, degeneración macular relacionada con la edad, "seca" o "húmeda", vitreoretinopatía proliferativa, formación de cataratas, pterigión, queratocono, degeneración macular relacionada con la edad y retinopatía diabética.

40 Todavía otra modalidad particular proporciona un anticuerpo o fragmento de éste, de acuerdo con la invención, para uso en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad cardiovascular, en particular hipertensión, hipertensión pulmonar, enfermedad de la válvula pulmonar o tricúspide, enfermedad de la válvula aórtica y mitral, coartación de aorta, aterosclerosis, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca, cardiomiopatía isquémica, miocardiopatía dilatada, arritmia crónica, fibrosis cardíaca y enfermedad de arteria coronaria.

45 Todavía otra modalidad particular proporciona un anticuerpo o fragmento de éste de acuerdo con la invención para uso en la prevención y/o tratamiento de un trastorno neurológico, en particular esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, inflamación neuronal, isquemia cerebral y dolor neuropático.

50 En otra modalidad se proporciona el uso de un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención para la preparación de una composición farmacéutica para prevenir y/o tratar una enfermedad relacionada con MMP9 seleccionada del grupo que consiste en enfermedades inflamatorias y autoinmunes, cánceres o tumores, enfermedades pulmonares, enfermedades pulmonares fibróticas, septicemia, distrofia muscular, alergia, fibrosis renal, esclerodermia, miocardiopatía dilatada, enfermedad de Chagas, enfermedades cardiovasculares, trastornos neuropsiquiátricos, diabetes, y enfermedades oculares, o cualquier otra enfermedad o trastorno relacionado con MMP9.

55

60

65

- 5 En una modalidad específica se proporciona el uso de un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención y/o tratamiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunes, enfermedades inflamatorias del intestino, cánceres o tumores, enfermedades fibróticas, enfermedades cardiovasculares, trastornos neuropsiquiátricos o enfermedades oculares.
- 10 En una modalidad particular se proporciona el uso de un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad inflamatoria y/o autoinmune en un individuo, en particular para la prevención o tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino (IBD) incluida la enfermedad de Crohn (CD), colitis ulcerosa (UC), colitis indeterminada, colitis colágena, artritis reumatoide (RA), esclerosis múltiple (MS), lupus eritematoso sistémico (SLE), síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica, polimiositis, aterosclerosis.
- 15 En una modalidad específica se proporciona el uso de un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención y/o tratamiento de enfermedad inflamatoria del intestino, en particular complicaciones penetrantes y constrictivas de la enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa.
- 20 En una modalidad particular se proporciona el uso de un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención y/o tratamiento de una enfermedad pulmonar que incluye asma, enfermedades pulmonares fibróticas como puede ser pulmonar idiopática, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), o una enfermedad seleccionada de septicemia, distrofia muscular, alergia, fibrosis renal, esclerodermia, miocardiopatía dilatada, enfermedad de Chagas, enfermedades cardiovasculares, trastornos neuropsiquiátricos, diabetes y enfermedades oculares.
- 25 En una modalidad alternativa se proporciona el uso de un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención y/o tratamiento de un cáncer o tumor, en particular para la prevención y/o tratamiento de un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cáncer hematopoyético, cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer de vejiga urinaria, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, melanoma, cáncer de próstata, cáncer muscular, cáncer mesenquimal, adenocarcinoma esofagogástrico, cáncer de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de células escamosas de pulmón, adenocarcinoma de pulmón, adenocarcinoma gástrico, adenocarcinoma pancreático, carcinoma hepatocelular, más particularmente
- 30 cáncer colorrectal o adenocarcinoma.
- 35 En una modalidad específica se proporciona el uso de un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención, para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención y/o tratamiento de cáncer colorrectal o adenocarcinoma.
- 40 En una modalidad específica se proporciona el uso de un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención, para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención y/o tratamiento de una enfermedad fibrótica, en particular esclerosis sistémica, fibroesclerosis multifocal, enfermedad esclerodermatosa injerto contra huésped en receptores de trasplante de médula ósea, fibrosis sistémica nefrogénica, fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, mielofibrosis y lupus eritematoso sistémico.
- 45 En una modalidad específica se proporciona el uso de un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención, para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención y/o tratamiento de una enfermedad ocular, en particular patologías fibróticas del cristalino, enfermedades de la córnea, retinopatía diabética, degeneración macular relacionada con la edad, "seca" o "húmeda", vitreorretinopatía proliferativa, formación de cataratas, pterigión, queratocono, degeneración macular relacionada con la edad y retinopatía diabética.
- 50 En una modalidad específica un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención, son útiles para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención y/o tratamiento de una enfermedad cardiovascular, en particular hipertensión, hipertensión pulmonar, enfermedad de la válvula pulmonar o tricúspide, enfermedad de la válvula aórtica y mitral, coartación de aorta, aterosclerosis, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca, cardiomiopatía isquémica, miocardiopatía dilatada, arritmia crónica, fibrosis cardíaca y enfermedad de arteria coronaria.
- 55 En una modalidad específica un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención, son útiles para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención y/o tratamiento de un trastorno neurológico, en particular esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, inflamación neuronal, isquemia cerebral y dolor neuropático.
- 60
- 65

En otra modalidad los anticuerpos de la invención son útiles en un método para la prevención y/o tratamiento de una enfermedad relacionada con MMP9 seleccionada del grupo que consiste en enfermedades inflamatorias y autoinmunes, cánceres o tumores, enfermedades pulmonares, enfermedades pulmonares fibróticas, septicemia, distrofia muscular, alergia, fibrosis renal, esclerodermia, miocardiopatía dilatada, enfermedad de Chagas, enfermedades cardiovasculares, trastornos neuropsiquiátricos, diabetes y enfermedades oculares, o cualquier otra enfermedad o trastorno relacionado con MMP9.

Cuando se utiliza en la presente "muestra biológica" se refiere a las células, muestras de tejido o componentes celulares (como pueden ser membranas celulares o componentes celulares) obtenidos de un individuo, en particular de un individuo que se sospecha que tiene, o que padece de, enfermedad inflamatoria o autoinmune y/o cáncer o tumor o está en alto riesgo de desarrollar tal trastorno.

Los ejemplos de muestra biológica incluyen muestras de sangre, suero, plasma, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial, orina, heces y tejido que incluya células aisladas de dicho tejido. Las muestras de tejido incluyen secciones de tejido fijadas con formalina o congeladas.

Puede emplearse cualquier método adecuado para la detección y análisis de MMP9, incluyendo técnicas de ensayo de diagnóstico conocidas en la técnica como puede ser ensayo de unión competitiva, ensayos sándwich directos o indirectos y ensayos de inmunoprecipitación realizados en fases heterogéneas u homogéneas.

En una modalidad particular, la invención proporciona un método *ex vivo* para detectar la presencia y/o concentración de la proteína MMP9 en una muestra biológica, que comprende los pasos de:

- (i) proporcionar una muestra biológica de un individuo,
- (ii) hacer reaccionar dicha muestra biológica con al menos un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención, en condiciones suficientes para unir la proteína MMP9 presente en dicha muestra biológica a dicho al menos un anticuerpo o fragmento de éste a través de interacciones antígeno-anticuerpo; y
- (iii) detectar una señal proporcional al nivel del complejo antígeno-anticuerpo formado en el paso (ii),

en donde la intensidad de la señal se correlaciona con la concentración de la proteína MMP9 en la muestra biológica.

En una modalidad particular, la invención proporciona un método *ex vivo* para detectar la presencia y/o concentración de proteína MMP9 activa en una muestra biológica, en donde al menos un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención comprende una región variable de la cadena pesada de ID SEC NO: 19 y una región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 70.

Más específicamente, se proporciona un método *ex-vivo* de pronóstico o diagnóstico útil para una enfermedad inflamatoria y/o autoinmune o un cáncer asociado con un nivel elevado de MMP9 de una muestra biológica de un individuo, que comprende los pasos de:

- (a) proporcionar una muestra biológica de un individuo;
- (b) poner dicha muestra biológica en contacto con una matriz sólida en donde al menos un anticuerpo o fragmento de éste de acuerdo con la invención se une a, en donde el contacto se hace en condiciones suficientes para unir la proteína MMP9 presente en dicha muestra de fluido biológico a dicho al menos un anticuerpo o fragmento de éste a través de interacciones antígeno-anticuerpo;
- (c) eliminar cualquier proteína MMP9 no unida de la superficie de dicha matriz sólida;
- (d) detectar una señal proporcional al nivel de complejo antígeno-anticuerpo unido a dicha matriz sólida,
- (e) comparar el nivel de señal detectado en el paso (d) con el nivel de señal detectado en las mismas condiciones con un testigo negativo,

en donde un nivel de señal detectado en la muestra del individuo que es mayor que el nivel de señal detectado en el testigo negativo es indicativo de un nivel elevado de MMP9 asociado con una enfermedad inflamatoria y/o autoinmune o un cáncer.

Kit

Los anticuerpos de la invención pueden usarse como un kit que comprende al menos un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención, y/o al menos un ácido nucleico que codifica dicho anticuerpo o fragmento de éste, y/o al menos un vector que comprende dicho ácido nucleico, y/o al menos una célula huésped de acuerdo con la invención, y opcionalmente material de instrucción.

En una modalidad particular, el kit comprende al menos un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con la invención, que se va a acoplar o ya está acoplado a una matriz sólida.

Los ejemplos de matriz sólida adecuados para la invención incluyen cualquier soporte de fase sólida adecuado para llevar a cabo un inmunoensayo o un método, como pueden ser perlas, micropartículas, nanopartículas, tubos, tejidos

o placas, películas, portaobjetos, pozos, formados de o recubiertos con vidrio, poliestireno, polipropileno, nitrocelulosa, cuarzo, cerámica, dextrano u otros materiales. Por ejemplo, la matriz sólida está en la forma de pozos de microtitulación, como puede ser una placa de microtitulación de 96 pozos.

5 La fijación de los anticuerpos o fragmentos de éstos, a la matriz sólida en un kit puede llevarse a cabo mediante adsorción o acoplamiento químico a un soporte de fase sólida. Puede utilizarse cualquier medio conocido en la técnica para inmovilizar una proteína o péptido a un soporte sólido. Los anticuerpos o fragmentos de éstos de acuerdo con la invención, pueden ser unidos de forma covalente o no covalente a la matriz sólida mediante técnicas como unión covalente a través de un enlace amida o éster o adsorción. Los péptidos pueden unirse utilizando pares de unión como biotina y avidina o anticuerpo y antígeno. Después de fijar los péptidos a la matriz sólida, la matriz sólida puede ser incubada con una solución de bloqueo (que contiene una proteína de bloqueo como albúmina de suero bovino) para reducir la adsorción no específica de anticuerpos en una muestra a ensayar a la superficie de soporte. De acuerdo con un aspecto, los anticuerpos o fragmento de éstos de acuerdo con la invención pueden ser sintetizados directamente sobre la matriz sólida del kit.

De acuerdo con un aspecto, cuando el kit comprende al menos un anticuerpo o fragmento de éste, de acuerdo con la invención, o una combinación de éstos para acoplamiento a una matriz sólida como soporte de fase sólida, el kit además, como una opción, comprende reactivos de acoplamiento y/o una matriz sólida para realizar un inmunoensayo.

De acuerdo con otro aspecto, el kit además comprende al menos un reactivo de enjuague para lavar material no unido antes de la detección con el fin de evitar la detección de ruido de fondo. Comúnmente los reactivos de enjuague comprenden amortiguadores normales conocidos en la técnica.

La presente invención está definida por las reivindicaciones adjuntas

Habiendo sido descrita la invención, los siguientes ejemplos se presentan a manera de ilustración, y no como limitación.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Generación y aislamiento de los anticuerpos anti-MMP9 de acuerdo con la invención

Los anticuerpos anti-MMP9 de acuerdo con la invención fueron obtenidos llevando a cabo los siguientes pasos:

1/ Presentación de fagos Hit Discovery (HD)

Se utilizó una genoteca de ScFv como una fuente de fragmentos ScFv. Esta genoteca es de origen natural (es decir, se construyó utilizando las PBMC de donadores humanos sanos, no inmunizados), de tamaño modesto (aproximadamente $2.5 \cdot 10^9$ combinaciones VH/VL) y contiene dominios VH derivados del repertorio de IgM sin selección clonal y sin conmutación de clase. Utilizando esta biblioteca se seleccionaron primero los candidatos de ScFv con base en su unión a MMP9 humana o de ratón (formas de longitud completa, pro-, y activadas) mediante presentación de fagos, los fragmentos ScFv fueron reformateados en IgG1 y se seleccionaron para neutralización funcional de la actividad de MMP9 (en particular, mediante la determinación de la IC₅₀, selectividad de especie, modalidad de neutralización (proMMP9 o MMP9). Este paso permite hacer la identificación de 10 anticuerpos candidatos, que podrían ser divididos en dos clases mecanicistas: las que bloquean la actividad MMP9 interfiriendo con la activación de proMMP9 latente (lo que sugiere que el pro-dominio es parte del epítipo que reconocen los anticuerpos) y las que interfieren directamente con la actividad catalítica de MMP9 activada (lo que sugiere que el dominio CAT_{fn} es parte del epítipo que reconocen los anticuerpos).

2/ Hit Optimization (HO) mediante el intercambio de la cadena VL para maduración de la afinidad:

Cuatro de los candidatos de la HD obtenidos en el paso anterior fueron sometidos a la Hit Optimization a través del intercambio de la cadena ligera lambda para mejorar su potencia. Básicamente, las cadenas VH del clon HD parental fueron permutadas contra todo el contenido lambda VL de la biblioteca original, generando varias bibliotecas específicas de nuevos clones.

3/ Optimización del Líder:

Se seleccionaron dos candidatos de HO (F20-VH/B03-VLc y F20-VH/B08-VLc) con base en su mecanismo de acción, es decir, la inhibición de la activación enzimática de MMP9, para optimización y caracterización del mejor candidato (líder), a través de, en particular (i) optimización mediante la germinación de residuos del marco (como se define por Kabat) para minimizar la desviación de la secuencia de la línea germinal humana más cercana para mejorar potencialmente las propiedades físicas y reducir el riesgo de inmunogenicidad, y (ii) el cambio de algunos aminoácidos o motivos de aminoácido dentro de las CDR que

podrían conducir a la inestabilidad química o agregación de anticuerpos. Esta estrategia permite la generación de anticuerpos que comprenden las regiones VH/VL indicadas en la Tabla anterior 2.

- 5 En los siguientes ejemplos, las regiones VH/VL específicas mencionadas en la Tabla 3 que siguen fueron reformateadas como IgG4 humana para otra caracterización. Para este propósito, los ácidos nucleicos que codifican las cadenas VH y VL de interés se clonaron en vectores pTT (manipulados para la compatibilidad de clonación con las cadenas originales) para co-expresión transitoria del IgG4 en células HEK293.

Tabla 3

Nombre	Secuencia de la región variable de cadena pesada	Secuencia de la región variable de cadena ligera
F20-VH-GL1/ B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 /B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 /B03-VL-GL1c	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 68
F20-VH-GL1/ B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 12	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V1-V9/ B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 17	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 /B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 18	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V4-V9 / B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 19	ID SEC NO: 70
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 /B08-VL-GL6c	ID SEC NO: 20	ID SEC NO: 70

10

Ejemplo 2: Potencia y eficacia de algunos anticuerpos anti-MMP9 de acuerdo con la invención en ensayos de actividad de MMP3/MMP9 humana y MMP9 humana

- 15 Se evaluó la neutralización funcional de la actividad catalítica de MMP9 hacia el sustrato polímero fluorogénico DQ-gelatina para algunos anticuerpos de acuerdo con la invención.

La actividad de la firma de MMP9 (y MMP2) es la degradación de la gelatina. La gelatina es una forma esencial e irreversiblemente desnaturalizada obtenida de diversos colágenos, varios de los cuales se consideran sustratos fisiológicos clave para MMP9. A diferencia de pequeños sustratos peptídicos, la unión y reconocimiento de la gelatina (similar a la de colágeno) por MMP9 es compleja y conocida por estar mediada a través de regiones de la molécula distintas del sitio activo, incluyendo los dominios de fibronectina y PEX. Con el fin de conservar estas interacciones 'exosito' fisiológicamente importantes y facilitar el aislamiento de clases neutralizadoras alostéricas potenciales 'no clásicas', se eligió un polímero de gelatina soluble fluorogénicamente extinguido (DQ-gelatina) como el sustrato clave para propósito de tamizado y clasificación con base en las placas. La hidrólisis del sustrato fue mediada por el fragmento truncado de MMP9 (es decir, pro-dominio eliminado). El ensayo se realizó en dos modos.

El primer modo, denominado "ensayo de MMP9", utilizó MMP9 pre-activada (de MMP9 manipulada que contenía un motivo de reconocimiento LETD caspasa 8 en la unión de escisión nativa) en la que el pro-dominio primero fue eliminado a través de la escisión dirigida de caspasa 8. El segundo modo, denominado "ensayo de MMP3/MMP9", fue ideado para incorporar la eliminación del pro-dominio (es decir, el paso de activación) como un proceso de unión adicional dentro del ensayo. Esto se logró combinando el dominio catalítico de MMP3 humana (Calbiochem, 444217-5) y proMMP9 de longitud completa (forma latente) en el coctel de ensayos junto con el sustrato DQ-gelatina (Lubio Science, D 12054) y anticuerpos a ensayar. MMP3, considerada como un activador fisiológicamente relevante de MMP9, ha demostrado que elimina el pro-dominio a través de un mecanismo secuencial de dos pasos (*Ogata et al, 1992, J. Biol. Chem. 267(6): 3581-4*), y es frecuentemente co-expresado con MMP9 en tejidos enfermos. Es importante destacar que, la MMP3 activada por sí misma no parece escindir significativamente el sustrato DQ-gelatina. Por lo tanto, la hidrólisis de DQ-gelatina (emisión de fluorescencia) en este ensayo depende de la activación de MMP9 mediada por MMP3 y la actividad catalítica intrínseca de MMP9, que ofrece el potencial de caracterizar neutralizadores que interfieren con cualquiera de los procesos.

Por lo tanto, se utilizó el "ensayo de MMP3/MMP9" para determinar la capacidad de los anticuerpos anti-MMP9 para neutralizar la activación de proMMP9 y su actividad catalítica corriente abajo. En resumen, las alícuotas de proMMP9 humana recombinante fueron pre-incubadas con diversas diluciones de los anticuerpos a ensayar durante una hora. La digestión se comenzó mediante la adición de un dominio catalítico recombinante de MMP3 humana,

45

junto con el sustrato fluorescente específico de MMP9, DQ-Gelatina. La señal de fluorescencia emitida (Excitación a 485 nm, Emisión a 520 nm) es proporcional a la digestión del sustrato de gelatina, como consecuencia de la actividad catalítica de la enzima MMP9 madura. La señal de fluorescencia se graficó contra las concentraciones de anticuerpo y se dedujeron potencias inhibitorias medias máximas (valores IC₅₀) a partir de las curvas de regresión no lineal.

El "ensayo de MMP9" se utilizó para determinar la capacidad de los anticuerpos anti-MMP9 para neutralizar directamente la actividad catalítica de MMP9 madura. En resumen, el ensayo es similar al "ensayo de MMP3/MMP9" pero utiliza una MMP9 recombinante escindida con caspasa, catalíticamente activa en lugar de proMMP9, por tanto, no se requiere la adición del dominio catalítico recombinante de MMP3 humana.

Todos los anticuerpos de acuerdo con la invención que fueron analizados fueron capaces de disminuir eficazmente la digestión de DQ-gelatina en ambos ensayos enzimáticos. Este resultado indica que todos los anticuerpos de acuerdo con la invención bloquean la activación de la proMMP9 para la enzima catalíticamente activa y/o bloquean la actividad catalítica de MMP9 (Tabla 4, Figura 6).

Tabla 4. Potencia y eficacia de anticuerpos anti-MMP9 para neutralizar el procesamiento de proMMP9 humana y/o su actividad catalítica corriente abajo sobre la gelatina

Regiones variables de la cadena pesada/ligera comprendidas en el anticuerpo	MMP9 humana (es decir, MMP9 activada)		proMMP9 humana	
	IC ₅₀ (nM)	Eficacia	IC ₅₀ (nM)	Eficacia
F20-VH-GL1/B03-VL-GL1c	1.92	100%	9.05	100%
F20-VH-GL1-V1-V9-V14/B03-VL-GL1c	3.16	100%	15.24	100%
F20-VH-GL1-V4-V9-V14/B03-VL-GL1c	1.30	100%	5.48	100%
F20-VH-GL1 /B08-VL-GL6c	3.92	100%	43.99	100%
F20-VH-GL1-V1-V9 /B08-VL-GL6c	2.64	100%	23.74	100%
F20-VH-GL1-V1-V9-V14/B08-VL-GL6c	3.86	100%	38.07	100%
F20-VH-GL1-V4-V9 /B08-VL-GL6c	0.97	100%	9.52	100%
F20-VH-GL1-V4-V9-V14/B08-VL-GL6c	2.92	100%	20.44	100%

El anticuerpo F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c de acuerdo con la invención se comparó con el anticuerpo comparativo 1 (anticuerpo conocido como AB0041, que tiene una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de ID SEC NO: 44 y de cadena ligera ID SEC NO: 45) utilizando el "ensayo de MMP9" con MMP9 activada, altamente purificada. Solo el anticuerpo F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c de acuerdo con la invención disminuyó eficazmente la digestión de DQ-gelatina con una IC₅₀ de 2.6 nM, mientras que el anticuerpo comparativo 1 fue inactivo. Este resultado indica que el anticuerpo F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c de acuerdo con la invención, es un inhibidor de la actividad enzimática de MMP9, mientras que el anticuerpo comparativo 1 no lo es.

En el "ensayo MMP3/MMP9", el anticuerpo F20-VH-GL1-V4-V9 /B08-VL-GL6c de acuerdo con la invención y el anticuerpo comparativo 1 disminuyeron eficazmente la digestión de DQ-gelatina con una IC₅₀ de 9.52 nM y 0.20 nM, respectivamente. En general, los resultados de estos dos ensayos enzimáticos indican que el anticuerpo comparativo 1 es un inhibidor de la activación de MMP9, mientras que el anticuerpo F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c es un inhibidor de la actividad catalítica de MMP9 y posiblemente un inhibidor de la activación de MMP9.

Ejemplo 3: Especificidad de especies de algunos anticuerpos anti-MMP9 de acuerdo con la invención en ensayo de MMP3/MMP9

La especificidad de la especie de las actividades inhibitorias enzimáticas de los anticuerpos anti-MMP9 se evaluó utilizando el "ensayo de MMP3/MMP9" descrito en el Ejemplo 2. La enzima utilizada fue proMMP9 de mono Cynomologus (cyno), rata o ratón.

Algunos anticuerpos de acuerdo con la invención, que fueron analizados, fueron capaces de bloquear eficazmente la activación y/o la actividad catalítica corriente arriba de proMMP9 de mono Cynomologus (cyno), rata y ratón (Tablas 5, 6 y 7, respectivamente).

Tabla 5. Potencia y eficacia de los anticuerpos anti-MMP9 para neutralizar proMMP9 de mono Cynomolgus en ensayos en gelatina de MMP3/MMP9.

Regiones variables de la cadena pesada/ligera comprendidas en el cuerpo	proMMP9 Cyno	
	IC₅₀ (nM)	Eficacia
F20-VH-GL1 / B03-VL-GL1c	3.85	100%
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B03-VL-GL1c	12.49	100%
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B03-VL-GL1c	3.75	100%
F20-VH-GL1 / B08-VL-GL6c	29.89	100%
F20-VH-GL1-V1-V9 / B08-VL-GL6c	15.79	100%
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B08-VL-GL6c	27.57	100%
F20-VH-GL1-V4-V9 / B08-VL-GL6c	5.86	100%
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B08-VL-GL6c	10.80	100%

5

Tabla 6. Potencia y eficacia de los anticuerpos anti-MMP9 para neutralizar proMMP9 de rata en los ensayos de MMP3/MMP9 en gelatina.

Regiones variables de la cadena pesada/ligera comprendidas en el anticuerpo	proMMP9 de rata	
	IC₅₀ (nM)	Eficacia
F20-VH-GL1 / B03-VL-GL1c	4.99	100%
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B03-VL-GL1c	8.82	100%
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B03-VL-GL1c	2.83	100%
F20-VH-GL1 / B08-VL-GL6c	17.41	100%
F20-VH-GL1-V1-V9 / B08-VL-GL6c	7.77	100%
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B08-VL-GL6c	12.28	100%
F20-VH-GL1-V4-V9 / B08-VL-GL6c	3.16	100%
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B08-VL-GL6c	6.19	100%

10

Tabla 7. Potencia y eficacia de anticuerpos anti-MMP9 para neutralizar proMMP9 de ratón o MMP9 activa en ensayos de gelatina de MMP3/MMP9 y MMP9, respectivamente.

Regiones variables de la cadena pesada/ligera comprendidas en el anticuerpo	MMP9 de ratón		proMMP9 de ratón	
	IC ₅₀ (nM)	Eficacia	IC ₅₀ (nM)	Eficacia
F20-VH-GL1 / B03-VL-GL1c	333	100%	38.77	25%
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B03-VL-GL1c	>500	ND	> 500	ND
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B03-VL-GL1c	164	100%	462	100%
F20-VH-GL1 / B08-VL-GL6c	0.86	100%	7.91	100%
F20-VH-GL1-V1-V9 / B08-VL-GL6c	1.20	100%	7.69	100%
F20-VH-GL1-V1-V9-V14 / B08-VL-GL6c	1.91	100%	11.11	100%
F20-VH-GL1-V4-V9 / B08-VL-GL6c	1.27	100%	7.80	100%
F20-VH-GL1-V4-V9-V14 / B08-VL-GL6c	2.37	100%	12.67	100%

ND: No se detectó

Ejemplo 4: Selectividad MMP de algunos anticuerpos anti-MMP9 de acuerdo con la invención en ensayo de actividad catalítica de MMP humanas

5

Se evaluó la selectividad de anticuerpos anti-MMP9 en un ensayo que evaluaba la escisión mediada por MMP de un sustrato péptido fluorogénico, OmniMMP™ RED (Enzo, BML-P277-9090), utilizando el kit MMP Inhibitor Profiling Kit (Enzo, BML-AK308). En resumen, alícuotas del dominio catalítico recombinante de diversas MMP humanas (MMP1, MMP2, MMP3, MMP8, MMP9, MMP12, MMP13, MMP14 y MMP19) fueron pre-incubadas con una concentración fija (100 nM) de anticuerpos a ensayar durante una hora. El inhibidor de MMP NNGH (Enzo, BML-PI115-9090) y anti-MMP2/9 (539A-M0237-D02, anticuerpo comparativo 3, que tiene una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de ID SEC NO: 64 y de cadena ligera ID SEC NO: 65), anti-MMP9 (539A-M0240-B03, anticuerpo comparativo 2, que tiene una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de ID SEC NO: 46 y de cadena ligera ID SEC NO: 47) y anticuerpos testigo isotipo (IgG1 anti-HEL) fueron incluidos en la prueba, como testigos positivo y negativo. Después se adicionó sustrato de péptido fluorogénico y se midió la fluorescencia. La señal de fluorescencia emitida es proporcional a la digestión del sustrato peptídico, por lo tanto, a la actividad de los dominios catalíticos de MMP. La señal de fluorescencia en ausencia del inhibidor se normalizó al 100% de actividad. Se proporcionó la señal obtenida en presencia de cada inhibidor respecto a este valor y se refirió al porcentaje de la actividad restante.

10

15

20

Todos los anticuerpos de acuerdo con la invención, que fueron analizados, fueron capaces de bloquear eficazmente la actividad catalítica de MMP9 humana, mientras que no tuvieron efecto significativo sobre la actividad catalítica de las otras MMP humanas analizadas (Figura 7). Todos los anticuerpos de acuerdo con la invención tampoco tuvieron efecto significativo sobre la actividad catalítica de MMP7, MMP10, MMP16 y MMP17 humana (no se muestran los datos).

25

Ejemplo 5: Potencia del anticuerpo anti-MMP9 de acuerdo con la invención en ensayos de actividad utilizando formas naturales secretadas de neutrófilos de MMP9 humana

30

Se han descrito varias formas naturales de MMP9 humana (MMP9 monomérica, MMP9 dimérica y MMP9 unida a la forma lipocalina NGAL asociada con gelatinasa B de neutrófilos (también denominada lipocalina-2), esta última forma sienta también denominada NGAL/MMP9 (Rudd *et al.*, 1999, *Biochemistry*, 38, 13937-13950)) y mostró estar asociada con estados de enfermedad.

35

La caracterización adicional de anticuerpos anti-MMP9 de la invención incluye neutralización de formas naturales de MMP9 derivadas de neutrófilos. Para este objetivo, se evaluó la neutralización funcional de la actividad catalítica MMP9 derivada de neutrófilos hacia el sustrato fluorogénico OmniMMPTM RED (de ENZO) mediante anticuerpos de acuerdo con la invención.

40

La activación de la fracción proMMP9 en preparaciones de MMP9 derivadas de neutrófilos se realizó mediante el pre-tratamiento con APMA (acetato p-aminofenil mercúrico), que hace accesible el sitio catalítico de MMP9, antes del ensayo de neutralización funcional con la variante del anticuerpo anti-MMP9 F20-VH/B08-VLc de la invención (F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c). En resumen, las alícuotas de diversas formas humanas de proMMP9 derivadas de neutrófilos activadas con APMA (monomérica, dimérica y NGAL/MMP9) fueron incubadas con el anticuerpo a

ensayar durante una hora. El anticuerpo testigo isotipo (IgG4 anti-HEL) se incluyó en la prueba, como testigo negativo. Después se adicionó sustrato péptido fluorogénico y se midió la fluorescencia. La señal de fluorescencia emitida (Excitación a 540 nm, Emisión a 590 nm) es proporcional a la digestión de sustrato peptídico, por lo tanto a la actividad de los dominios catalíticos de MMP.

5 Como se muestra en la Figura 8, la variante del anticuerpo F20-VH/B08-VLc de la invención (F20-VH-GLI-V4-V9/B08-VL-GL6c) neutraliza la actividad de múltiples formas fisiológicas de MMP9 humana: MMP9 monomérica, MMP9 dimérica y NGAL/MMP9 con 100% de eficacia.

10 El anticuerpo de la invención se comparó con el anticuerpo comparativo 1 utilizando el "ensayo MMP3/MMP9" descrito en el Ejemplo 2. La variante del anticuerpo F20-VH/B08-VLc de la invención (F20-VH-GLI-V4-V9/B08-VL-GL6c) inhibe la actividad enzimática de MMP9 derivada de neutrófilos humanos con 100% de eficacia, ya sea en forma monomérica o dimérica o unida a NGAL (Figura 9), mientras que el anticuerpo comparativo 1 solo mostró inhibición parcial (25% de eficacia) sobre todas las formas de MMP9 derivada de neutrófilos (Figura 9). La neutralización completa de todas las formas activas naturales de MMP9 por la variante de anticuerpo de la invención F20-VH/B08-VLc (F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c) debe traducirse en eficacia superior en pacientes con altos niveles en suero de MMP9 monomérica, dimérica y/o complejo NGAL/MMP9.

20 **Ejemplo 6: Cinética de unión y afinidad para las formas pro- y activadas de MMP9 humana de los anticuerpos anti-MMP9 de acuerdo con la invención**

La unión de los anticuerpos anti-MMP9 hacia el antígeno de MMP9 humana recombinante se caracterizó utilizando el ensayo normal de Resonancia de Plasmón de Superficie (SPR). En un primer paso, los anticuerpos anti-MMP9 fueron capturados por el anticuerpo anti-Fc humano inmovilizado en un chip sensor BIAcore. En un segundo paso, MMP9 activada con pro-MMP9 o MMP3 se tituló de 4.7 a 150 nM en diluciones 2 veces. Los sensogramas revelaron que ambas variantes de F20-VH/B08-VLc (F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c) y el anticuerpo comparativo 1 se unieron bien a MMP9 activada con MMP3 (Figura 10). El anticuerpo comparativo 1 también se unió bien a pro-MMP9, pero se observó señal mínima con la variante de anticuerpo F20-VH/B08-VLc (F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c) (Figura 10). La Tabla 8 presenta las afinidades de unión (KD) de la variante de anticuerpo F20-VH/B08-VLc de acuerdo con la invención (F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c) y del anticuerpo comparativo 1 hacia MMP9 activada con pro-MMP9 humana y MMP3. Dado que se observó menos de 1% de unión a una concentración de anticuerpo de 150 nM, la KD de la variante de anticuerpo F20-VH/B08-VLc (F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c) para pro-MMP9 se estimó que era mayor de 15 μ M.

Tabla 8

Anticuerpo	Antígeno	K _D (nM)
F20-VH/ B08-VLc	Pro-MMP9	>15,000
	MMP9	11.7
Anticuerpo comparativo 1	Pro-MMP9	0.9
	MMP9	5.0

35 KD - constante de disociación de equilibrio, todas calculadas a partir de las curvas

Ejemplo 7: Mapeo de los epítomos de los anticuerpo anti-MMP9 de acuerdo con la invención.

40 Otra caracterización de los anticuerpos anti-MMP9 de la invención incluye la identificación de las regiones de la MMP9 humana que son importantes para la unión del anticuerpo, y de este modo se definen los epítomos. Esta caracterización se llevó a cabo en un miembro de cada uno de los anticuerpos F20/B08 y F20/B03, a saber, F20-VH-GL1-V1-V9-V14/B03-VL-GL1c y F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c.

45 La tecnología utilizada para determinar los epítomos de MMP9 capaces de unirse específicamente a los anticuerpos anti-MMP9 de la invención aplica la reticulación química y espectrometría de masas (*Peter and Tomer, 2001, Anal. Chem., 73, 4012-4019; Pimenova et al, 2008, J. Mass Spectrom. JMS, 43, 185-195; Herzog et al., 2012, Science 337, 1348-1352*). En primer lugar, los anticuerpos de la invención y pro-MMP9 se mezclaron en solución y se sometieron a reticulación química utilizando reticuladores deuterados especialmente diseñados. Después, la MMP9 y el complejo anticuerpo-MMP9 unidos de manera covalente se sometieron a proteólisis utilizando 3 diferentes enzimas proteolíticas con el fin de generar un gran número de péptidos superpuestos que cubrieron toda la

50

secuencia de la MMP9. Los péptidos de MMP9 sola y del complejo anticuerpo-MMP9 reticulado se analizaron mediante espectrometría de masas de alta resolución (nLC-Orbitrap MS) y se compararon para determinar los péptidos que interactúan del inmunocomplejo.

5 Este análisis mostró que la interfaz de interacción entre MMP9 humana (ID SEC NO 1) y los anticuerpos de la invención se localiza dentro de 3 epítopos MMP9 discontinuos que incluyen las siguientes secuencias de aminoácidos MMP9:

10 ID SEC NO: 41: ¹⁵⁰AVTPLTFTRVYSRDADIVIQF¹⁷⁰ (correspondiente a las posiciones de aminoácidos 150 a 170 de MMP9 humana) (denominada en la presente región 1),
 ID SEC NO: 42: ¹⁹⁸IQGDHFDDELWVSLGKGVVVPTRFG²²³ (correspondiente a las posiciones de aminoácidos 198 a 223 de MMP9 humana) (denominada en la presente región 2), e
 ID SEC NO: 43: ⁴¹⁹MYPMYRFTEGPPLHKDDVNGIR⁴⁴⁰ (correspondiente a las posiciones de aminoácidos 419 a 440 de MMP9 humana) (denominada en la presente región 3).

15 Se utilizaron diversos mutantes recombinantes de MMP9 humana para determinar los aminoácidos importantes para la unión del anticuerpo comparativo 1 a MMP9 (AB0041 monoclonal de ratón, WO 2013/130078). El análisis identificó los residuos E111, D113, R162 y 1198 como importantes para la unión del anticuerpo comparativo 1 a MMP9 humana. Dos de estos aminoácidos, R162 y 1198, están presentes en regiones del epítipo reconocidas por los anticuerpos anti-MMP9 de la invención (región 1 y región 2). Sin embargo, la región 3 define una región novedosa del epítipo específicamente importante para los anticuerpos anti-MMP9 de la invención. La región 3 está dentro de dominio catalítico de MMP9. Debido a que los anticuerpos anti-MMP9 de la invención, a diferencia del anticuerpo comparativo 1, son capaces de inhibir la actividad enzimática de la MMP9 completamente madura, mientras que el anticuerpo comparativo 1 no se une a la MMP9 completamente humana, es posible que la unión a la
 20 región 3 confiera a los anticuerpos anti-MMP9 de la invención la capacidad para neutralizar la actividad enzimática de la MMP9 completamente madura.

25 Además, se demostró que el anticuerpo monoclonal de ratón REGA-3G12 (*Martens et al., supra*) se une al péptido G171 a L187 de la MMP9 humana utilizando ensayos de unión y competencia. La región de MMP9 (G171-L187) unida por el anticuerpo REGA-3G12 está fuera de las 3 regiones de MMP9 reconocidas por los anticuerpos anti-MMP9 de la invención.

35 **Ejemplo 8: Unión directa y unión competitiva de anticuerpos anti-MMP9 a formas pro- y activadas de la MMP9 humana**

Las capacidades de unión directa de los anticuerpos anti-MMP9 hacia pro-MMP9 humana y MMP9 humana activada con MMP3, respectivamente, se evaluaron utilizando un protocolo normal ELISA. En resumen, placas de 96-pozos se recubrieron con (2.5 µg/mL) de cualquiera de las formas de MMP9 durante 16 h a temperatura ambiente. Después de 2h de incubación con amortiguador de bloqueo (suero de cabra al 2% en PBS/Tween) y cuatro lavados con amortiguador de lavado (PBS/Tween 0.05% v/v), diversas concentraciones de anticuerpos anti-MMP9 biotinilados (anticuerpo comparativo 1 o variante F20-VH/B08-VLc (F20-VH-GLI-V4-V9/B08-VL-GL6c) se adicionaron por duplicado y se incubaron durante 1 h. Los pozos después se lavaron cuatro veces y se revelaron los anticuerpos biotinilados unidos utilizando estreptavidina acoplada con HRP y sustrato TMB. La absorbancia se leyó a 450 nm y 620 nm para cada duplicado y los datos se expresaron como absorbancia corregida (A450-A620). Los resultados que se muestran en la Figura 11 indican que, tanto el anticuerpo comparativo 1 como los anticuerpos anti-MMP9, la variante F20-VH/B08-VLc (F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c), se unen fuertemente a MMP9 activada con MMP3 (Figura 11B), en una forma dependiente de la dosis. Por el contrario, mientras el anticuerpo comparativo 1 se une bien a pro-MMP9, en una forma dependiente de la dosis (Figura 11A), el anticuerpo anti-MMP9, la variante F20-VH/B08-VLc (F20-VH-GLI-V4-V9/B08-VL-GL6c), solo muestra unión significativa a pro-MMP9 en la concentración más alta analizada (5 µg/mL) (Figura 11A).

Para analizar si el anticuerpo, la variante F20-VH/B08-VLc (F20-VH-GLI-V4-V9/B08-VL-GL6c), podría competir con el anticuerpo comparativo 1 para la unión a MMP9, se utilizó el mismo ensayo ELISA con el recubrimiento de MMP9 activada con MMP3, pero la variante F20-VH/B08-VLc de anticuerpos purificados o anticuerpo comparativo 1 se
 55 adicionaron durante 2 horas antes de la adición de los anticuerpos anti-MMP9 biotinilados. Después de cuatro lavados con amortiguador de lavado, se adicionó una dosis óptima predefinida de anticuerpo comparativo biotinilado 1 o F20-VH/B08-VLc y se incubó durante 1 h. Los resultados mostrados en la Figura 11 panel C, indican que la adición del anticuerpo anti-MMP9 variante F20-VH/B08-VLc (F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c) no evita la unión del anticuerpo comparativo 1 a MMP9, mientras que la misma concentración de anticuerpo comparativo purificado 1 evita completamente otra unión del anticuerpo comparativo biotinilado 1 a MMP9.

Tomados en conjunto, estos experimentos de unión muestran que, a diferencia del anticuerpo comparativo 1, la variante F20-VH/B08-VLc (F20-VH-GLI-V4-V9/B08-VL-GL6c) anticuerpo anti-MMP9 se une preferencialmente a la forma activa de MMP9 frente a pro-MMP9, y que no compite con el anticuerpo comparativo 1 para la unión a MMP9.

65

Ejemplo 9: Efecto del anticuerpo anti-MMP9 de acuerdo con la invención en ensayo de invasión de células cancerosas

La invasión de línea de células cancerosas se evaluó utilizando ensayos Transwell recubierto con Matrigel. Las membranas insertadas de transwell (proporcionado en el kit de Cultrex - 3455-024) se recubrieron con extracto de membrana basal (BME x0.5; proporcionada en el kit de Cultrex) y se incubaron durante 24h a 37°C. Mientras tanto, MGC803 (línea celular de cáncer gástrico humano - Easy-Bio, China) se cosecharon en medio de cultivo RPMI (Gibco - 52400025) se privaron de suero (medio sin nutrientes). Las células fueron entonces recuperadas y se resuspendieron a 0.5×10^6 células/mL en medio sin nutrientes que contenía 100 ng/mL de PMA (forbol 12-miristato 13-acetato de Sigma-P8139) y ya sea inhibidor de MMP 25 μ M (GM-6001 de Millipore - CC1000), 10 μ g/mL de anticuerpo anti-MMP9 (F20-VH/B08-VLc variante F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c), 10 μ g/mL de anticuerpo anti-IgG4 (testigo isotipo) o ninguno (medio). Cien μ L de células tratadas se sembraron en transwell recubierto con Matrigel y se adicionaron 500 μ L de medio RPMI que contenía 10% de FCS en el lado inferior del transwell. Las placas se incubaron durante 16 h a 37°C. Las células invasoras se cuantificaron mediante incubación de la parte inferior de la membrana de transwell con Calcein-AM, cuya escisión en calceína fluorescente es proporcional a los recuentos celulares. La señal fluorescente emitida (Excitación a 485 nm, emisión a 520 nm) refleja la eficiencia de la invasión celular a través de Matrigel.

Los resultados muestran que el anticuerpo anti-MMP-9 F20-VH/variante B08-VLc (F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c) inhibe eficientemente la migración de células de cáncer MGC803 a través de Matrigel con eficacia similar cuando se compara con el inhibidor de MMP GM-6001 (Figura 12). A medida que las células metastásicas escapan de su lugar de origen invadiendo el tejido circundante, incluidas membranas basales, este resultado indica que el anti-MMP9 de la invención podría ser un fármaco anti-migratorio y anti-invasivo eficaz para cánceres metastásicos.

Ejemplo 10: Actividad del anticuerpo anti-MMP9 de acuerdo con la invención en un modelo de colitis de ratón

El modelo de colitis de ratón inducida por dextrano sulfato de sodio (DSS) de enfermedad inflamatoria del intestino (IBD) es ampliamente utilizado en estudios preclínicos. Los fármacos que están aprobados para el tratamiento de colitis ulcerosa, como esteroides, metronidazol, 5'-aminosalicilatos, ciclosporina, e inmunoterapia anti-TNF α han demostrado eficacia en reducir la gravedad de la enfermedad en el modelo de DSS mostrando que este modelo es un modelo relevante para la traducción de datos de ratón a la enfermedad humana (*Perse et al., 2012, J. Biomed. Biotechnol., 2012:718617*). La colitis de ratón es inducida mediante la adición de DSS al agua potable dando como resultado en el daño a la mucosa del colon. La manifestación clínica de colitis DSS en fase aguda puede incluir pérdida de peso y diarrea. Los cambios histológicos típicos de colitis DSS aguda son similares a los que se observan en IBD humana e incluyen agotamiento de mucina, degeneración epitelial, y necrosis dando origen a la desaparición de las células epiteliales. Esto último es acompañado por infiltración de neutrófilos dentro de la lámina propia y submucosa, criptitis, abscesos de las criptas, e inflamación de la mucosa y submucosa del colon.

La eficacia terapéutica de un anticuerpo anti-MMP9 de acuerdo con la invención se evaluó en un modelo de colitis inducida por DSS en ratones BALB/c. La colitis fue inducida con 4% (p/v) de DSS en el agua para beber durante 5 días. Las dosis de 30 mg/kg de los anticuerpos F20-VH/B08-VLc (variante F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c) o testigo isotipo (IgG4) se inyectaron por vía intraperitoneal a grupos de 10 ratones en el día 6, 9 y 12, y los animales fueron sacrificados en el día 14.

El curso de la enfermedad se evaluó en modo enmascarado mediante endoscopia de video de la parte inferior del colon en los días 6, 10 y 14. La colitis se puntuó visualmente en una escala de 0-14 con base en el grado de ulceración, vascularización, y granularidad presente en el tejido y longitud del colon implicada de la siguiente manera: ulceración (0, 1, 2 o 3), enmascaramiento de la vascularización (0, 1, 2 o 3), granularidad (0, 1, 2 o 3), eritema (0, 1, 2 o 3), longitud implicada (0, 1: localizada, 2: difusa). A cada ratón se le asignó una puntuación de endoscopia única correspondiente al daño observado a lo largo de toda la longitud del colon examinado. Los animales que tuvieron una puntuación endoscópica <5 en el día 6, antes de comenzar el tratamiento con anticuerpos, se consideró que no tenían suficiente gravedad de la enfermedad y fueron excluidos del otro análisis. Como se muestra en la Figura 13, en el día 6, ambos grupos tuvieron puntuación de endoscopia media semejante mientras en la terminación del estudio Día 14, los animales tratados con F20-VH/B08-VLc-mostraron una mejora significativa ($p = 0.005$) en la puntuación de endoscopia media en comparación con el grupo tratado con anticuerpo testigo isotipo.

A la terminación del estudio (día 14), se cortó el colon distal de cada ratón, se fijó con formalina y se incrustaron en parafina y se seccionaron para histología. Todas las secciones fueron teñidas con hematoxilina y eosina y se examinaron en un modo enmascarado en cuanto a los grupos de tratamiento. Los tejidos se puntuaron para daño del epitelio e infiltración de células inflamatorias de acuerdo con la escala de puntuación de 1-4 para cada parámetro. La puntuación de histología representa la suma de las puntuaciones del daño del epitelio e infiltración de células inflamatorias, y por tanto, abarca desde 0 hasta 8. Los resultados se muestran en la Figura 14.

Los ratones tratados con DSS desarrollaron una colitis caracterizada por hiperplasia epitelial y depleción de células calciformes, infiltración de células inflamatorias en la mucosa y sub-mucosa. También se observaron abscesos de la cripta y erosión y ulceración mucosa en algunas secciones transversales del colon. Como se muestra en la Figura 13, el análisis de las puntuaciones histológicas mostró que el tratamiento con anticuerpo anti-MMP9 estuvo asociado con una disminución en la puntuación media de la gravedad de la colitis en F20-VH/B08-VLc en comparación con el grupo testigo tratado con anticuerpo isotipo. Del mismo modo, las puntuaciones medias para infiltración de células inflamatorias y daño epitelial también disminuyeron por el tratamiento con anticuerpo anti-MMP9 cuando se comparó con el grupo testigo tratado con anticuerpo isotipo.

Ejemplo 11: Actividad de un anticuerpo anti-MMP9 de acuerdo con la invención en un modelo de ratón de trasplante heterotópico de fibrosis intestinal

El daño grave al tejido mucoso es una característica principal de enfermedad inflamatoria del intestino (IBD). La lesión de tejido es un desencadenante para las actividades de reparación mediante las células circundantes. El cierre rápido de la herida es importante para reducir el tiempo durante el cual se deteriora la función de barrera de la pared intestinal, pero la reparación excesiva de tejido promueve la fibrosis, un hecho común en la enfermedad de Crohn (CD). La fibrosis da origen a la formación de estenosis en 10-40% de los pacientes (*Cosnes et al., 2002, Inflamm. Bowel Dis., 8(4): 244-50; Freeman, 2003, J. Clin. Gastroenterol., 37(3): 216-9*), una indicación para cirugía en aproximadamente 80% de los pacientes con estenosis (*Cosnes et al, 2002, supra*).

El trasplante heterotópico de resecciones intestinales en ratones da origen a la desaparición del epitelio intestinal y culmina en la oclusión fibrótica del lumen intestinal, recapitulando las características histológicas y moleculares de la fibrosis intestinal humana, como puede ser engrosamiento de la pared luminal, deposición exagerada de colágeno, y expresión de mediadores profibróticos.

Las resecciones de intestino delgado donador (ratón C57BL/6-Tg UBC-GFP marcado con proteína verde fluorescente) fueron trasplantadas por vía subcutánea en el cuello de ratones C57BL/6 receptores. Los ratones fueron inyectados por vía intraperitoneal en el día 5, 8 y 10 con 30 mg/kg de un anticuerpo anti-MMP9 de la invención (F20-VH/B08-VLc, variante F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c), o anticuerpo testigo isotipo (IgG4), 5 ratones por grupo. Los injertos de intestino delgado fueron explantados 14 días después del trasplante. Después de cada explante, cada injerto se dividió en tres segmentos iguales. El segmento central se fijó en formalina al 4%, y se preparó para la evaluación histopatológica. Los dos segmentos externos se congelaron instantáneamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -70°C hasta la extracción de RNA o proteína.

Las secciones transversales histológicas fueron teñidas con rojo Sirio para resaltar el colágeno (mancha roja). El espesor de la capa de colágeno se determinó por un investigador independiente enmascarado para el tipo de experimento. La evaluación microscópica se realizó utilizando un AxioCam MRc5 en un microscopio Zeiss Axiophot. El espesor de la capa de colágeno se midió con el software Axio Vision Release 4.7.2 (Zeiss). El espesor se calculó a partir de ocho lugares en áreas representativas (en ocho muestras investigadas para cada punto temporal) a una amplificación de 100 veces. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software PRISM 6. Se utilizó la prueba t no pareada para la comparación entre los grupos.

En comparación con el isotipo testigo, el tratamiento anti-MMP9 con F20-VH/B08-VLc protege significativamente contra la pérdida de la estructura epitelial en injertos intestinal heterotópicos como se muestra en la Figura 15 y reduce significativamente ($p < 0.0001$) el espesor de la capa de colágeno en injertos intestinales heterotópicos, como se muestra en la Figura 16. Este resultado indica que el anticuerpo anti-MMP9 de la invención podría efectivamente (lacuna) las enfermedades fibróticas y la enfermedad de Crohn fistulizante.

Ejemplo 12: Efecto del anticuerpo anti-MMP9 en ratones desnudos suizos portadores de células de tumor de colon humano subcutáneo HCT-116.

La línea celular de cáncer de colon humano HCT-116 (1×10^7 células) se inyectó por vía subcutánea en el costado derecho de ratones desnudos y se dejó crecer hasta $\approx 100 \text{ mm}^3$ antes de iniciar el tratamiento. El anticuerpo anti-MMP9 de la invención F20-VH/B08-VLc, variante F20-VH-GL1-V4-V9/B08-VL-GL6c o anticuerpo testigo isotipo IgG4 se inyectan por vía intraperitoneal durante 3 semanas. Los ratones recibieron una dosis de carga de anticuerpos a 50 mg/kg en el primer día de tratamiento y después se dosificaron dos veces por semana a 30 mg/kg. Los ratones fueron sacrificados en el día 21 después del inicio del tratamiento y se recolectaron los tumores y órganos primarios con metástasis para análisis. Se midió el peso y tamaño del tumor primario y se contó el número de focos visualmente metastásicos en los ganglios linfáticos, hígado, pulmón y peritoneo.

LISTADO DE SECUENCIAS

Secuencia de aminoácidos de MMP9 humana (Secuencia de referencia del NCBI: NP_004985.2)

5 SEQ ID NO: 1
 mslwqplvlv llvlgccfaa prqrqstlvt fpgdlrtnlt drqlaeeyly rygytrvaem
 rgeskslgpa llllqkqlsl petgeldsat lkamrtprcg vpdlgrfqt egdlkwhhhn
 itywiqnyse dlpravidda farafalwsa vtpltftrvy srdadiviqf gvaehgdgyp
 fdgkdgllah afpppggiqg dahfdddelw slgkgvvvpt rfgnadgaac hfpfifegrs
 10 ysacttdgrs dglpwcstta nydtddrfgf cpserlytqd gnadgkpcqf pfifggqsys
 acttdgrsdg yrwcattany drdklfgfcp tradstvmgg nsagelcvfp ftflgkeyst
 ctsegrgdgr lwcattsndf sdkkwgfcpd qgyslflvaa hefghalgld hssvpealmy
 pmyrfteggp lhkddvngir hlygprpepe prppttttpq ptapptvcpt gpptvhpser
 ptagptgpps agptgpptag pstattvpls pvddacnvi fdaiaaignq lyflkdgkyw
 15 rfsegrgsrp qgpfliadkw palprkldsv feerlskklf ffsgrqvwvy tgasvlgpr
 ldklglgadv aqvtgalrsg rgkmlfsg rlrwrfdvkaq mvdprasev drmfpgvpld
 thdvfyrek ayfcqdrfyw rvssrselnq vdqvgvytyd ilqcped

20 Secuencia de aminoácidos de F20-VH-CDR1 de cadena pesada SEQ ID NO: 2: DYPMH

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-CDR2 de cadena pesada SEQ ID NO: 3: GISSNSGSVGYADSVKG

25 Secuencia de aminoácidos de F20-VH-CDR3 de cadena pesada SEQ ID NO: 4:
 DKIIYGSGSYDFYYYYGMDV

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-CDR2-V1 de cadena pesada SEQ ID NO: 5: GISSQSGSVGYADSVKG

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-CDR2-V4 de cadena pesada SEQ ID NO: 6: GISSRSGSVGYADSVKG

30 Secuencia de aminoácidos de F20-VH-CDR2-V9 de cadena pesada SEQ ID NO: 7: GISSNSGSVGYAESVKG

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-CDR2-V1-V9 de cadena pesada SEQ ID NO: 8:
 GISSQSGSVGYAESVKG

35 Secuencia de aminoácidos de F20-VH-CDR2-V4-V9 de cadena pesada SEQ ID NO: 9:
 GISSRSGSVGYAESVKG

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-CDR3-V14 de cadena pesada SEQ ID NO: 10:
 DKIIYGSGSYDFYYYYGIDV

40 Secuencia de aminoácidos de F20-VH de cadena pesada

SEQ ID NO: 11:

45 EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSNSGSV
GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDKIYYGSGSYDFYYYYGM
DVWGQGTTVTVSS

50 Secuencia de aminoácidos de F20-VH-GL1

SEQ ID NO: 12:

55 EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSNSGSV
GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDKIYYGSGSYDFYYYYGM
DVWGQGTTVTVSS

60 Secuencia de aminoácidos de F20-VH-GL1-V1 de cadena pesada

SEQ ID NO: 13:

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSQSGSV
GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDKIYYGSGSYDFYYYYGM
DVWGQGTTVTVSS

5

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-GL1-V4 de cadena pesada

SEQ ID NO: 14:

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSRSGSV
GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDKIYYGSGSYDFYYYYGM
DVWGQGTTVTVSS

10

15

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-GL1-V9 de cadena pesada

SEQ ID NO: 15:

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSNSGSV
GYAESVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDKIYYGSGSYDFYYYYGM
DVWGQGTTVTVSS

20

25

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-GL1-V14 de cadena pesada

SEQ ID NO: 16:

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSNSGSV
GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDKIYYGSGSYDFYYYYGI
DVWGQGTTVTVSS

30

35

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-GL1-V1-V9 de cadena pesada

SEQ ID NO: 17:

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSQSGSV
GYAESVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDKIYYGSGSYDFYYYYGM
DVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVKDKRVESESKYG
PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKA
KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

40

45

50

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-GL1-V1-V9-V14 de cadena pesada

SEQ ID NO: 18:

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSQSGSV
GYAESVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDKIYYGSGSYDFYYYYGI
DVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVKDKRVESESKYG
PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKA
KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

55

60

65

ES 2 784 271 T3

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-GL1-V4-V9 de cadena pesada

SEQ ID NO: 19:

5 EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSRSGSV
GYA**ES**VKGRFTISRDNAKNSLYLQMN**SLRA**EDTALYYCARDKIYYGSGSYDFYYYYGM
DVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
10 LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYG
PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKA
KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPV
15 LDSDGSSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-GL1-V4-V9-V14 de cadena pesada

SEQ ID NO: 20:

20 EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSRSGSV
GYA**ES**VKGRFTISRDNAKNSLYLQMN**SLRA**EDTALYYCARDKIYYGSGSYDFYYYYGI
DVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
25 LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYG
PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKA
KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPV
30 LDSDGSSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG

Secuencia de aminoácidos de B03-VL-CDR1 de cadena ligera SEQ ID NO: 21: QGDSLRSYYAS

Secuencia de aminoácidos de B03-VL-CDR2 de cadena ligera SEQ ID NO: 22: GKNNRPS

35 Secuencia de aminoácidos de B03-VL-CDR3 de cadena ligera SEQ ID NO: 23: QSRDNIGNHRVVL

Secuencia de aminoácidos de B03-VL de cadena ligera

SEQ ID NO: 24:

40 SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYYASWYQQKPGQAPVAVIYGKNNRPSGIP
DRFSGSSSGNTVSLTITGAQAEDYCYCQSRDNIGNHRVVLFGGGTKVTVLG

Secuencia de aminoácidos de B03-VL-GL1 de cadena ligera

45 SEQ ID NO: 25:
SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYYASWYQQKPGQAPVAVIYGKNNRPSGIP
50 DRFSGSSSGNTVSLTITGAQAEDYCYCQSRDNIGNHRVVLFGGGTKLTVLG

Secuencia de aminoácidos de B08-VL-CDR1 de cadena ligera SEQ ID NO: 26: TGTSNDVGAYNRVS

Secuencia de aminoácidos de B08-VL-CDR2 de cadena ligera SEQ ID NO: 27: GVSNRPS

55 Secuencia de aminoácidos de B08-VL-CDR3 de cadena ligera SEQ ID NO: 28: TSYSSSTTSYVV

Secuencia de aminoácidos de B08-VL de cadena ligera

SEQ ID NO: 29:

60 QSALTQPRSVSGSPGQSVTI SCTGTSTNDVGAYNRVSWYQQHPGKAPKLLIYGVSNRPS
GVSTRFSGSKSGNTASLTISGLLADEADFYCTSYSSSTTSYVVFGGGTKVTVLG

65 Secuencia de aminoácidos de B08-VL-GL6 de cadena ligera

ES 2 784 271 T3

SEQ ID NO: 30:

5 QSALTQ**P**ASVSGSPGQ**S**ITISCTGTSNDVGAYNRVSWYQQHPGKAPK**LMI**YGVSNR**P**S
GVS**NR**FGSKSGNTASLTISGL**QAE**DEADFYCTSYSSSTTSYVVFGGGTKVTVLG

Secuencia de ácidos nucleicos de F20-VH-CDR1 de cadena pesada SEQ ID NO: 31: gactacccatgcac

10 Secuencia de ácidos nucleicos de F20-VH-CDR2 de cadena pesada SEQ ID NO: 32:
ggcatctcctcaactccggctccgtgggctacgccgactccgtgaagggc

Secuencia de ácidos nucleicos de F20-VH-CDR3 de cadena pesada

15 SEQ ID NO: 33:

gacaagatctactacggctccggctcctacgacttctactactactacggcatggacg
tg

20 Secuencia de ácidos nucleicos de B03-VL-CDR1 de cadena ligera SEQ ID NO: 34:
caaggcattctctcgctcatattatgcttct

25 Secuencia de ácidos nucleicos de B03-VL-CDR2 de cadena ligera SEQ ID NO: 35: ggaaaaacaaccgacctct

30 Secuencia de ácidos nucleicos de B03-VL-CDR3 de cadena ligera SEQ ID NO: 36:
caatctcgagacaatataggaacatagattgttctg

35 Secuencia de ácidos nucleicos de B08-VL-CDR1 de cadena ligera SEQ ID NO: 37:
acaggaacgtctaataatgatgtggggcttacaatcgcgt-cagt

Secuencia de ácidos nucleicos de B08-VL-CDR2 de cadena ligera SEQ ID NO: 38: ggcgtgtctaacaggcctagc

40 Secuencia de ácidos nucleicos de B08-VL-CDR3 de cadena ligera SEQ ID NO: 39:
acaagctacagtagcagtaccacatcatatgctcgc

Secuencia de aminoácidos de la región constante de cadena pesada de IgG4 humana modificada genéticamente

40 SEQ ID NO: 40:

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVTVFSSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPCCP**P**CPAPEFLG

45 GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTYRVVSVLTVQLQDWLNKGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLP
PSQEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYS**KL**
TVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG

50 Secuencia de aminoácidos de la región 1 comprendida en el epítipo MMP9
SEQ ID NO: 41: AVTPLTFTRVYSRDADIVIQF

55 Secuencia de aminoácidos de la región 2 comprendida en el epítipo MMP9
SEQ ID NO: 42: IQGDAHFDDELWVSLGKGVVVPTRFG

Secuencia de aminoácidos de la región 3 comprendida en el epítipo MMP9
SEQ ID NO: 43: MYPMYRFTEGPPLHKDDVNGIR

60 Secuencia de aminoácidos de cadena pesada del anticuerpo comparativo 1 (conocido como AB0041)

65

SEQ ID NO: 44:

QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLLSYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWTGGTTN
YNSALMSRLSISKDDSKSQVFLKMNSLQTD DTAIYYCARYYYGMDYWGQGT SVTVSSA
5 STKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGG
PSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
10 FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP
SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLGLG

Secuencia de aminoácidos de cadena ligera del anticuerpo comparativo 1 (conocido como AB0041)

SEQ ID NO: 45:

DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVRNTVAWYQQKTGQSPKLLIYSSSYRNTGV
PDRFTGSGSGTDFTF TISSVQAEDLAVYFCQQHYITPYTFGGG TKLEIKRTVAAPSVF
20 IFPPSDEQLKSGTASV VCLLNIFYPREAKVQNKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYS
LSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC

Secuencia de aminoácidos de cadena pesada del anticuerpo comparativo 2 (conocido como 539A-M0240-B03)

SEQ ID NO: 46:

EVQLLES GGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSTYQM VVWRQAPGKGLEWVSVIYPSGGPT
VYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARGEDYDSSGPGAFDIWGQ
GTMVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGV
30 HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRV EPKSCDKHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLD
35 SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Secuencia de aminoácidos de cadena ligera del anticuerpo comparativo 2 (conocido como 539A-M0240-B03)

SEQ ID NO: 47:

QYELTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLM IYDVSKRPS
GVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCCSYAGSYTLVFGGGTKLTVLGQPKAN
PTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNN
45 KYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-GL2 de cadena pesada

SEQ ID NO: 48:

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSNSGSV
50 GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDTALYYCARDKIYYGSGSYDFYYYYGM
DVWGQGTTVTVSS

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-CDR2-V2 de cadena pesada SEQ ID NO: 49: GISSHSGSVGYADSVKG

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-CDR2-V3 de cadena pesada SEQ ID NO: 50: GISSKSGSVGYADSVKG

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-CDR2-V11 de cadena pesada SEQ ID NO: 51: GISSNSGSVGYADTVKG

60 Secuencia de aminoácidos de F20-VH-CDR3-V13 de cadena pesada SEQ ID NO: 52: DKIIYGGSGSYDFYYYYGLDV

Secuencia de aminoácidos de F20-VH-GL1-V2 de cadena pesada

65

SEQ ID NO: 53:

5 EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISS**H**SGSV
GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCARDKIYYGSGSYDFYYYYGM
DVGWGQGTITVTVSS

10 Secuencia de aminoácidos de F20-VH-GL1-V3 de cadena pesada

SEQ ID NO: 54:

15 EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISS**K**SGSV
GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCARDKIYYGSGSYDFYYYYGM
DVGWGQGTITVTVSS

20 Secuencia de aminoácidos de F20-VH-GL1-V11 de cadena pesada

SEQ ID NO: 55:

25 EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSNSGSV
GYAD**T**VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCARDKIYYGSGSYDFYYYYGM
DVGWGQGTITVTVSS

30 Secuencia de aminoácidos de F20-VH-GL1-V13 de cadena pesada

SEQ ID NO: 56:

35 EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSNSGSV
GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCARDKIYYGSGSYDFYYYY**GL**
DVGWGQGTITVTVSS

40 Secuencia de aminoácidos de B03-VL-GL2 de cadena ligera

SEQ ID NO: 57:

45 SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYYASWYQOKPGQAPV**L**VIYKNNRPSGIP
DRFSGSSSGNT**A**SLTITGAQAEDEADYQCSDNIGNHRVVLFGGGTK**L**TVL

50 Secuencia de aminoácidos de B08-VL-GL1 de cadena ligera

SEQ ID NO: 58:

55 QSALTQPRSVSGSPGQS**I**TISCTGTSNDVGAYNRVSWYQHPGKAPKLLIYGVSNRPS
GVS**N**RFSGSKSGNTASLTISGL**QAE**DEADFYCTSYSSSTTSYVVFGGGTKVTVL

60 Secuencia de aminoácidos de B08-VL-GL2 de cadena ligera

SEQ ID NO: 59:

65 QSALTQPRSVSGSPGQS**I**TISCTGTSNDVGAYNRVSWYQHPGKAPKLLIYGVSNRPS
GVS**N**RFSGSKSGNTASLTISGL**QAE**DEADFYCTSYSSSTTSYVVFGGGTKVTVL

70 Secuencia de aminoácidos de B08-VL-GL3 de cadena ligera

SEQ ID NO: 60:

75 QSALTQPRSVSGSPGQS**I**TISCTGTSNDVGAYNRVSWYQHPGKAPKLLIYGVSNRPS
GVS**N**RFSGSKSGNTASLTISGL**QAE**DEADYCTSYSSSTTSYVVFGGGTKVTVL

80

ES 2 784 271 T3

Secuencia de aminoácidos de B08-VL-GL4 de cadena ligera

SEQ ID NO: 61:

5 QSALTQPRSVSGSPGQSITISCTGTSNDVGAYNRVSWYQQHPGKAPKLMYGVSNRPS
GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADFYCTSYSSSTTSYVVFFGGGTKVTVL

Secuencia de aminoácidos de B08-VL-GL5 de cadena ligera

SEQ ID NO: 62:

10 QSALTQPA^ASVSGSPGQSITISCTGTSNDVGAYNRVSWYQQHPGKAPKLLIYGVSNRPS
GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYICTSYSSSTTSYVVFFGGGTKVTVL

Secuencia de aminoácidos de B08-VL-GL7 de cadena ligera

SEQ ID NO: 63:

15 QSALTQPA^ASVSGSPGQSITISCTGTSNDVGAYNRVSWYQQHPGKAPKLMYGVSNRPS
GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYICTSYSSSTTSYVVFFGGGTKVTVL

20 Secuencia de aminoácidos de cadena pesada del anticuerpo comparativo 3 (conocido como 539A-M0237-D02)

SEQ ID NO: 64:

25 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYPMWVRQAPGKGLEWVSYIVPSGGRT
YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRAYGDYVGNWGFYWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPFSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTT
30 CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

35 Secuencia de aminoácidos de cadena ligera del anticuerpo comparativo 3 (conocido como 539A-M0237-D02)

SEQ ID NO: 65:

40 DIQMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSFLAWYQQKPGQAPRLLIYDASYRATGI
PARFSGSGSGTDFTLTITISSLEPEDFAVYYCQQRGWPITFGQGTRLEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

45 Secuencia de aminoácidos de la región constante de cadena ligera de IgG4 humana modificada genéticamente

SEQ ID NO: 66:

50 GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVANKADSSPVKAGVETTP
SKQSNKYAASSYLSLTPEQWKS^HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Secuencia de aminoácidos de B03-VLc de cadena ligera

SEQ ID NO: 67:

55 SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVVVIYGKNNRPSGIP
DRFSGSSSGNTVSLTITGAQAEDEADYICQSRDNIGNHRVVLFFGGGTKVTVL

Secuencia de aminoácidos de B03-VL-GLIc de cadena ligera

SEQ ID NO: 68:

60 SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVVVIYGKNNRPSGIP
DRFSGSSSGNTVSLTITGAQAEDEADYICQSRDNIGNHRVVLFFGGGTKLTVL

65 Secuencia de aminoácidos de B08-VLc de cadena ligera

ES 2 784 271 T3

SEQ ID NO: 69:
QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSENDVGAYNRVSWYQQHPGKAPKLLIYGVSNRPS
GVSTRFSGSKSGNTASLTISGLLADEADFYCTSYSSSTTSYVVFGGGTKVTVL

5 Secuencia de aminoácidos de B08-VL-GL6c de cadena ligera

10 SEQ ID NO: 70:
QSALTQPA**S**SVSGSPGQS**I**TI**S**CTGTSENDVGAYNRVSWYQQHPGKAPK**L**MIYGVSNRPS
GVSN**R**RFSGSKSGNTASLTISGL**Q****A**EDEADFYCTSYSSSTTSYVVFGGGTKVTVL

15 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> CALYPSO BIOTECH SA
MERCK PATENT GMBH

20 <120> ANTICUERPOS ESPECÍFICOS PARA MMP9

<130> P1750PC00

<150> EP14180765

25 <151> 2014-08-13

<160> 74

<170> PatentIn versión 3.5

30 <210> 1

<211> 707

<212> PRT

<213> Homo sapiens

35 <400> 1

Met Ser Leu Trp Gln Pro Leu Val Leu Val Leu Leu Val Leu Gly Cys
1 5 10 15

40

Cys Phe Ala Ala Pro Arg Gln Arg Gln Ser Thr Leu Val Leu Phe Pro
20 25 30

45

Gly Asp Leu Arg Thr Asn Leu Thr Asp Arg Gln Leu Ala Glu Glu Tyr
35 40 45

50

Leu Tyr Arg Tyr Gly Tyr Thr Arg Val Ala Glu Met Arg Gly Glu Ser
50 55 60

55

Lys Ser Leu Gly Pro Ala Leu Leu Leu Leu Gln Lys Gln Leu Ser Leu
65 70 75 80

60

Pro Glu Thr Gly Glu Leu Asp Ser Ala Thr Leu Lys Ala Met Arg Thr
85 90 95

65

Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Leu Gly Arg Phe Gln Thr Phe Glu Gly
100 105 110

65

ES 2 784 271 T3

Asp Leu Lys Trp His His His Asn Ile Thr Tyr Trp Ile Gln Asn Tyr
 115 120 125
 5 Ser Glu Asp Leu Pro Arg Ala Val Ile Asp Asp Ala Phe Ala Arg Ala
 130 135 140
 10 Phe Ala Leu Trp Ser Ala Val Thr Pro Leu Thr Phe Thr Arg Val Tyr
 145 150 155 160
 15 Ser Arg Asp Ala Asp Ile Val Ile Gln Phe Gly Val Ala Glu His Gly
 165 170 175
 20 Asp Gly Tyr Pro Phe Asp Gly Lys Asp Gly Leu Leu Ala His Ala Phe
 180 185 190
 25 Pro Pro Gly Pro Gly Ile Gln Gly Asp Ala His Phe Asp Asp Asp Glu
 195 200 205
 30 Leu Trp Ser Leu Gly Lys Gly Val Val Val Pro Thr Arg Phe Gly Asn
 210 215 220
 35 Ala Asp Gly Ala Ala Cys His Phe Pro Phe Ile Phe Glu Gly Arg Ser
 225 230 235 240
 40 Tyr Ser Ala Cys Thr Thr Asp Gly Arg Ser Asp Gly Leu Pro Trp Cys
 245 250 255
 45 Ser Thr Thr Ala Asn Tyr Asp Thr Asp Asp Arg Phe Gly Phe Cys Pro
 260 265 270
 50 Ser Glu Arg Leu Tyr Thr Gln Asp Gly Asn Ala Asp Gly Lys Pro Cys
 275 280 285
 55 Gln Phe Pro Phe Ile Phe Gln Gly Gln Ser Tyr Ser Ala Cys Thr Thr
 290 295 300
 60 Asp Gly Arg Ser Asp Gly Tyr Arg Trp Cys Ala Thr Thr Ala Asn Tyr
 305 310 315 320
 65 Asp Arg Asp Lys Leu Phe Gly Phe Cys Pro Thr Arg Ala Asp Ser Thr
 325 330 335
 70 Val Met Gly Gly Asn Ser Ala Gly Glu Leu Cys Val Phe Pro Phe Thr
 340 345 350
 75 Phe Leu Gly Lys Glu Tyr Ser Thr Cys Thr Ser Glu Gly Arg Gly Asp
 355 360 365

ES 2 784 271 T3

Gly Arg Leu Trp Cys Ala Thr Thr Ser Asn Phe Asp Ser Asp Lys Lys
 370 375 380

5

Trp Gly Phe Cys Pro Asp Gln Gly Tyr Ser Leu Phe Leu Val Ala Ala
 385 390 395 400

10

His Glu Phe Gly His Ala Leu Gly Leu Asp His Ser Ser Val Pro Glu
 405 410 415

15

Ala Leu Met Tyr Pro Met Tyr Arg Phe Thr Glu Gly Pro Pro Leu His
 420 425 430

20

Lys Asp Asp Val Asn Gly Ile Arg His Leu Tyr Gly Pro Arg Pro Glu
 435 440 445

25

Pro Glu Pro Arg Pro Pro Thr Thr Thr Thr Pro Gln Pro Thr Ala Pro
 450 455 460

30

Pro Thr Val Cys Pro Thr Gly Pro Pro Thr Val His Pro Ser Glu Arg
 465 470 475 480

35

Pro Thr Ala Gly Pro Ser Thr Ala Thr Thr Val Pro Leu Ser Pro Val
 500 505 510

40

Asp Asp Ala Cys Asn Val Asn Ile Phe Asp Ala Ile Ala Glu Ile Gly
 515 520 525

45

Asn Gln Leu Tyr Leu Phe Lys Asp Gly Lys Tyr Trp Arg Phe Ser Glu
 530 535 540

50

Gly Arg Gly Ser Arg Pro Gln Gly Pro Phe Leu Ile Ala Asp Lys Trp
 545 550 555 560

55

Pro Ala Leu Pro Arg Lys Leu Asp Ser Val Phe Glu Glu Arg Leu Ser
 565 570 575

60

Lys Lys Leu Phe Phe Phe Ser Gly Arg Gln Val Trp Val Tyr Thr Gly
 580 585 590

Ala Ser Val Leu Gly Pro Arg Arg Leu Asp Lys Leu Gly Leu Gly Ala
 595 600 605

Asp Val Ala Gln Val Thr Gly Ala Leu Arg Ser Gly Arg Gly Lys Met
 610 615 620

ES 2 784 271 T3

5 Leu Leu Phe Ser Gly Arg Arg Leu Trp Arg Phe Asp Val Lys Ala Gln
 625 630 635 640

10 Met Val Asp Pro Arg Ser Ala Ser Glu Val Asp Arg Met Phe Pro Gly
 645 650 655

15 Val Pro Leu Asp Thr His Asp Val Phe Gln Tyr Arg Glu Lys Ala Tyr
 660 665 670

20 Phe Cys Gln Asp Arg Phe Tyr Trp Arg Val Ser Ser Arg Ser Glu Leu
 675 680 685

25 Asn Gln Val Asp Gln Val Gly Tyr Val Thr Tyr Asp Ile Leu Gln Cys
 690 695 700

30 Pro Glu Asp
 705

35 <210> 2
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-CDR1

45 <400> 2

50 Asp Tyr Pro Met His
 1 5

55 <210> 3
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-CDR2

65 <400> 3

70 Gly Ile Ser Ser Asn Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

75 Gly

80 <210> 4
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

85 <220>

ES 2 784 271 T3

<223> cadena pesada F20-VH-CDR3

<400> 4

5 Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

10 Gly Met Asp Val
20

<210> 5

<211> 17

15 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> cadena pesada F20-VH-CDR2-V1

20 <400> 5

25 Gly Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

30 <210> 6

<211> 17

<212> PRT

35 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> cadena pesada F20-VH-CDR2-V4

40 <400> 6

Gly Ile Ser Ser Arg Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

45 Gly

<210> 7

50 <211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

55 <223> cadena pesada F20-VH-CDR2-V9

<400> 7

60 Gly Ile Ser Ser Asn Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Glu Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

ES 2 784 271 T3

5 <210> 8
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> cadena pesada F20-VH-CDR2-V1-V9

10 <400> 8

Gly Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Glu Ser Val Lys
1 5 10 15

15 Gly

20 <210> 9
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> cadena pesada F20-VH-CDR2-V4-V9

30 <400> 9

Gly Ile Ser Ser Arg Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Glu Ser Val Lys
1 5 10 15

35 Gly

40 <210> 10
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> cadena pesada F20-VH-CDR3-V14

<400> 10

50 Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Ile Asp Val
20

55 <210> 11
<211> 129
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> cadena pesada F20-VH

60 <400> 11

65 <400> 11

ES 2 784 271 T3

1 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asp Tyr
 10 Pro Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 15 Ser Gly Ile Ser Ser Asn Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 20 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 25 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 30 Ala Arg Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr
 35 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 Ser
 <210> 12
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> F20-VH-GL1
 45 <400> 12
 1 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 50 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asp Tyr
 55 Pro Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 60 Ser Gly Ile Ser Ser Asn Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

ES 2 784 271 T3

<210> 14
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> cadena pesada F20-VH-GL1-V4

<400> 14

10

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

15

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

20

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

25

Ser Gly Ile Ser Ser Arg Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

30

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

35

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

40

Ala Arg Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr
 100 105 110

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

Ser

45

<210> 15
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50

<220>
 <223> cadena pesada F20-VH-GL1-V9

<400> 15

55

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

60

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

ES 2 784 271 T3

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

5 Ser Gly Ile Ser Ser Asn Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Glu Ser Val
 50 55 60

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

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

20 Ala Arg Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr
 100 105 110

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

30 <210> 16
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-GL1-V14
 <400> 16

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

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

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

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

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

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

70 Ala Arg Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr
 100 105 110

ES 2 784 271 T3

Tyr Tyr Gly Ile Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 5
 Ser
 10
 <210> 17
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-GL1-V1-V9
 20
 <400> 17
 20
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 25
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asp Tyr
 20 25 30
 30
 Pro Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35
 Ser Gly Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Glu Ser Val
 50 55 60
 35
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 40
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 45
 Ala Arg Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr
 100 105 110
 50
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser
 55
 <210> 18
 <211> 129
 <212> PRT
 60
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-GL1-V1-V9-V14

ES 2 784 271 T3

<400> 18

5
 1 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 5 5 10 15
 10
 20 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asp Tyr
 20 20 25 30
 10
 15 Pro Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 15 Ser Gly Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Glu Ser Val
 50 55 60
 20 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 25 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 25 Ala Arg Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr
 100 105 110
 30 Tyr Tyr Gly Ile Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 35 Ser

<210> 19

40 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>

45 <223> cadena pesada F20-VH-GL1-V4-V9

<400> 19

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

ES 2 784 271 T3

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

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

 10 Ala Arg Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr
 100 105 110

 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 15
 Ser

 20
 <210> 20
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 25
 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-GL1-V4-V9-V14
 30
 <400> 20
 30 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

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

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

 Ser Gly Ile Ser Ser Arg Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Glu Ser Val
 50 55 60
 45

 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 50
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

 55 Ala Arg Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr
 100 105 110

 Tyr Tyr Gly Ile Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 60
 Ser

ES 2 784 271 T3

5 <210> 21
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> cadena ligera B03-VL-CDR1

10 <400> 21

Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser
 1 5 10

15 <210> 22
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> cadena ligera B03-VL-CDR2

20 <400> 22

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser
 1 5

30 <210> 23
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> cadena ligera B03-VL-CDR3

<400> 23

40 Gln Ser Arg Asp Asn Ile Gly Asn His Arg Val Val Leu
 1 5 10

45 <210> 24
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> cadena ligera B03-VL

<400> 24

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

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

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

65

ES 2 784 271 T3

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 5
 Ser Ser Gly Asn Thr Val Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80
 10 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Arg Asp Asn Ile Gly Asn His
 85 90 95
 15 Arg Val Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110
 <210> 25
 <211> 111
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> cadena ligera B03-VL-GL1
 25 <400> 25
 Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 30 Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
 20 25 30
 35 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Ile Tyr
 35 40 45
 40 Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 45 Ser Ser Gly Asn Thr Val Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80
 50 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Arg Asp Asn Ile Gly Asn His
 85 90 95
 55 Arg Val Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
 100 105 110
 <210> 26
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 60 <220>
 <223> cadena ligera B08-VL-CDR1
 <400> 26

ES 2 784 271 T3

Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr Asn Arg Val Ser
 1 5 10

5

<210> 27
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>
 <223> cadena ligera B08-VL-CDR2

15

<400> 27
 Gly Val Ser Asn Arg Pro Ser
 1 5

20

<210> 28
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>
 <223> cadena ligera B08-VL-CDR3

30

<400> 28

30

Thr Ser Tyr Ser Ser Ser Thr Thr Ser Tyr Val Val
 1 5 10

35

<210> 29
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40

<220>
 <223> cadena ligera B08-VL

45

<400> 29

45

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

50

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

55

Asn Arg Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

60

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

60

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

Leu Ala Ala Asp Glu Ala Asp Phe Tyr Cys Thr Ser Tyr Ser Ser Ser

ES 2 784 271 T3

<210> 32
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-CDR2
 <400> 32
 10 ggcatctcct ccaactccgg ctccgtgggc tacgccgact ccgtgaaggg c 51
 <210> 33
 <211> 60
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-CDR3
 20
 <400> 33
 gacaagatct actacggctc cggctcctac gacttctact actactacgg catggacgtg 60
 25 <210> 34
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> cadena ligera B03-VL-CDR1
 <400> 34
 35 caaggcgatt ctctgcgctc atattatgct tct 33
 <210> 35
 <211> 21
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> cadena ligera B03-VL-CDR2
 45 <400> 35
 ggaaaaaaca accgaccatc t 21
 <210> 36
 50 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 55 <223> cadena ligera B03-VL-CDR3
 <400> 36
 caatctcgag acaatatagg gaaccataga gttgttctg 39
 60
 <210> 37
 <211> 42
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia Artificial

ES 2 784 271 T3

<220>
 <223> cadena ligera B08-VL-CDR1

<400> 37
 5 acaggaacgt ctaatgatgt gggggcttac aatcgcggtca gt 42

<210> 38
 <211> 21
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> cadena ligera B08-VL-CDR2

<400> 38
 15 ggcgtgtcta acaggcctag c 21

<210> 39
 <211> 36
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> cadena ligera B08-VL-CDR3

<400> 39
 25 acaagctaca gtagcagttac cacatcatat gtcgtc 36
 30

<210> 40
 <211> 326
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Región constante de cadena pesada de IgG4 humana modificada genéticamente

<400> 40

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

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

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

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

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

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

65

ES 2 784 271 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 325

<210> 41
 <211> 21
 <212> PRT

ES 2 784 271 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Región 1 comprendida en epítopo MMP9

5 <400> 41

Ala Val Thr Pro Leu Thr Phe Thr Arg Val Tyr Ser Arg Asp Ala Asp
1 5 10 15

10

Ile Val Ile Gln Phe
20

15 <210> 42
<211> 26
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Región 2 comprendida en epítopo MMP9

25 <400> 42

Ile Gln Gly Asp Ala His Phe Asp Asp Asp Glu Leu Trp Ser Leu Gly
1 5 10 15

30 Lys Gly Val Val Val Pro Thr Arg Phe Gly
20 25

35 <210> 43
<211> 22
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Región 3 comprendida en epítopo MMP9

45 <400> 43

Met Tyr Pro Met Tyr Arg Phe Thr Glu Gly Pro Pro Leu His Lys Asp
1 5 10 15

50 Asp Val Asn Gly Ile Arg
20

55 <210> 44
<211> 441
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

60 <220>
<223> cadena pesada del anticuerpo comparativo 1

65 <400> 44

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

ES 2 784 271 T3

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

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

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

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

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

Arg Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr
 100 105 110

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

30 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
 130 135 140

35 Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
 145 150 155 160

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

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

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

50 Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
 210 215 220

55 Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255

60 Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
 260 265 270

ES 2 784 271 T3

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285
 5
 Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 290 300
 10
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 305 310 315 320
 15
 Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 325 330 335
 20
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
 340 345 350
 25
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 355 360 365
 30
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 370 375 380
 35
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 385 390 395 400
 40
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
 405 410 415
 45
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 420 425 430
 50
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 435 440
 55
 <210> 45
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 60
 <220>
 <223> cadena ligera del anticuerpo comparativo 1
 65
 <400> 45
 70
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15
 75
 Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Thr
 20 25 30
 80
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

ES 2 784 271 T3

		35		40		45													
5	Tyr	Ser	Ser	Ser	Tyr	Arg	Asn	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly			
		50					55					60							
10	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Ala			
	65					70					75				80				
15	Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	His	Tyr	Ile	Thr	Pro	Tyr			
				85						90				95					
20	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala			
			100						105					110					
25	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly			
			115					120					125						
30	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala			
		130				135						140							
35	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln			
	145				150						155					160			
40	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser			
				165						170					175				
45	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr			
			180						185					190					
50	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser			
			195					200					205						
55	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys													
	210																		
60	<210>	46																	
	<211>	454																	
	<212>	PRT																	
	<213>	Secuencia Artificial																	
	<220>																		
	<223>	cadena pesada del anticuerpo comparativo 2																	
65	<400>	46																	
70	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly			
	1			5						10					15				
75	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr			
			20						25					30					

ES 2 784 271 T3

Gln Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 5
 Ser Val Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Pro Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 10
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 15
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 20
 Ala Arg Gly Glu Asp Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Pro Gly Ala Phe Asp
 100 105 110
 25
 Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 115 120 125
 30
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 130 135 140
 35
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 145 150 155 160
 40
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 165 170 175
 45
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 180 185 190
 50
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 195 200 205
 55
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
 210 215 220
 60
 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 225 230 235 240
 65
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 245 250 255
 70
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 260 265 270
 75
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 275 280 285

ES 2 784 271 T3

5 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 290 295 300

10 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 305 310 315 320

15 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 325 330 335

20 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 340 345 350

25 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 355 360 365

30 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 370 375 380

35 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 385 390 395 400

40 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 405 410 415

45 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 420 425 430

50 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 435 440 445

55 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 47
 <211> 216
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> cadena ligera del anticuerpo comparativo 2

60 <400> 47

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

65 Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
 20 25 30

ES 2 784 271 T3

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

5 Met Ile Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60

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

15 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
 85 90 95

20 Tyr Thr Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
 100 105 110

25 Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
 115 120 125

30 Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
 130 135 140

35 Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
 145 150 155 160

40 Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
 165 170 175

45 Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
 180 185 190

50 Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
 195 200 205

55 Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215

<210> 48
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> cadena pesada F20-VH-GL2

<400> 48

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

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

ES 2 784 271 T3

5 Pro Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Ser Asn Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 10 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 15 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 20 Ala Arg Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr
 100 105 110
 25 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser
 30 <210> 49
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-CDR2-V2
 40 <400> 49
 Gly Ile Ser Ser His Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 45 Gly
 50 <210> 50
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-CDR2-V3
 <400> 50
 60 Gly Ile Ser Ser Lys Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

ES 2 784 271 T3

<210> 51
 <211> 17
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-CDR2-V11
 10
 <400> 51

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

 Gly

 20
 <210> 52
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 25
 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-CDR3-V13

 <400> 52
 30
 Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr Tyr Tyr
 1 5 10 15

 35 Gly Leu Asp Val
 20

 40
 <210> 53
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 45 <223> cadena pesada F20-VH-GL1-V2

 <400> 53

 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 50 1 5 10 15

 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asp Tyr
 20 25 30
 55
 Pro Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

ES 2 784 271 T3

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

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

 10 Ala Arg Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr
 100 105 110

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

 Ser

 20
 <210> 54
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 25
 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-GL1-V3
 30
 <400> 54
 30 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

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

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

 45 Ser Gly Ile Ser Ser Lys Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

 55 Ala Arg Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr
 100 105 110

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

 Ser

ES 2 784 271 T3

<210> 55
 <211> 129
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-GL1-V11
 10
 <400> 55

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

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

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

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

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

 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 35

 Ala Arg Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr
 100 105 110

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

 45 Ser

 <210> 56
 50 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cadena pesada F20-VH-GL1-V13
 55
 <400> 56

 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 60 1 5 10 15

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

ES 2 784 271 T3

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

10 Ser Gly Ile Ser Ser Asn Ser Gly Ser Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

25 Ala Arg Asp Lys Ile Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Asp Phe Tyr Tyr
100 105 110

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

35 Ser

40 <210> 57
<211> 110
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> cadena ligera B03-VL-GL2

50 <400> 57

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

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

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

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

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

80 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Arg Asp Asn Ile Gly Asn His
85 90 95

ES 2 784 271 T3

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

5 <210> 58
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> cadena ligera B08-VL-GL1
 <400> 58

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

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

25 Asn Arg Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

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

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

35 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Phe Tyr Cys Thr Ser Tyr Ser Ser Ser
 85 90 95

40 Thr Thr Ser Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

45 <210> 59
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> cadena ligera B08-VL-GL2
 <400> 59

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

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

60 Asn Arg Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

ES 2 784 271 T3

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

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

10 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Phe Tyr Cys Thr Ser Tyr Ser Ser Ser
 85 90 95

15 Thr Thr Ser Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 60
 <211> 112
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> cadena ligera B08-VL-GL3

25 <400> 60

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

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

35 Asn Arg Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

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

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

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

50 Thr Thr Ser Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

55 <210> 61
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> cadena ligera B08-VL-GL4

<400> 61

ES 2 784 271 T3

1 Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 5 Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
 10 Asn Arg Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 15 Met Ile Tyr Gly Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 20 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 25 Thr Thr Ser Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 30 <210> 62
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> cadena ligera B08-VL-GL5
 <400> 62
 40 Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 45 Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
 50 Asn Arg Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 55 Leu Ile Tyr Gly Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 60 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Ser Ser Ser
 70 Thr Thr Ser Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 75 Thr Thr Ser Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 80 Thr Thr Ser Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 85 Thr Thr Ser Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 90 Thr Thr Ser Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 95 Thr Thr Ser Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

ES 2 784 271 T3

<210> 63
 <211> 112
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> cadena ligera B08-VL-GL7

 10 <400> 63

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

 15 Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
 20 25 30

 20 Asn Arg Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

 25 Met Ile Tyr Gly Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60

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

 35 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Ser Ser Ser
 85 90 95

 40 Thr Thr Ser Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

 40 <210> 64
 <211> 454
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 45 <220>
 <223> cadena pesada del anticuerpo comparativo 3

 <400> 64

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

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

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

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

ES 2 784 271 T3

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 5
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 10
 Ala Lys Asp Arg Ala Tyr Gly Asp Tyr Val Gly Trp Asn Gly Phe Asp
 100 105 110
 15
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 115 120 125
 20
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 130 135 140
 25
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 145 150 155 160
 30
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 165 170 175
 35
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 180 185 190
 40
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 195 200 205
 45
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
 210 215 220
 50
 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 225 230 235 240
 55
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 245 250 255
 60
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 260 265 270
 65
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 275 280 285
 70
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 290 295 300
 75
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 305 310 315 320

ES 2 784 271 T3

5 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 325 330 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 340 345 350

10 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 355 360 365

15 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 370 375 380

20 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 385 390 395 400

25 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 420 425 430

30 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 435 440 445

35 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450

40 <210> 65
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> cadena ligera del anticuerpo comparativo 3
 <400> 65

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

55 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Phe
 20 25 30

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

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

ES 2 784 271 T3

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

5 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Gly Asn Trp Pro Ile
85 90 95

10 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

40
<210> 66
<211> 106
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45
<220>
<223> Región constante de cadena ligera de IgG4 humana modificada genéticamente

50
<400> 66

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

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

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

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

ES 2 784 271 T3

5 Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
 65 70 75 80
 Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
 85 90 95
 10 Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 100 105
 15 <210> 67
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> cadena ligera B03-VLc
 <400> 67
 25 Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 30 Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
 20 25 30
 35 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Ile Tyr
 35 40 45
 40 Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 45 Ser Ser Gly Asn Thr Val Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80
 50 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Arg Asp Asn Ile Gly Asn His
 85 90 95
 55 Arg Val Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110
 60 <210> 68
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> cadena ligera B03-VL-GL1c
 <400> 68
 Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15

ES 2 784 271 T3

Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
 20 25 30
 5
 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Ile Tyr
 35 40 45
 10
 Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 15
 Ser Ser Gly Asn Thr Val Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80
 20
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Arg Asp Asn Ile Gly Asn His
 85 90 95
 25
 Arg Val Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110
 <210> 69
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> cadena ligera B08-VLc
 35
 <400> 69
 Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 40
 Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr
 20 25 30
 45
 Asn Arg Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 50
 Leu Ile Tyr Gly Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Thr Arg Phe
 50 55 60
 55
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80
 60
 Leu Ala Ala Asp Glu Ala Asp Phe Tyr Cys Thr Ser Tyr Ser Ser Ser
 85 90 95
 Thr Thr Ser Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

ES 2 784 271 T3

<210> 70
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> cadena ligera B08-VL-GL6c

<400> 70

10

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

15

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

20

Asn Arg Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

25

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

30

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

35

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Phe Tyr Cys Thr Ser Tyr Ser Ser Ser
 85 90 95
 Thr Thr Ser Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado específico para MMP9, o un fragmento de unión al antígeno de éste, en donde dicho anticuerpo o fragmento de este, comprende:
- 5
- (i) una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 11, o una variante de la ID SEC NO: 11, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones en la secuencia de la ID SEC NO:11: N₅₄Q, N₅₄R, N₅₄K, N₅₄H, D₆₂E, S₆₃T, M₁₁₆I, D₈₈A y V₉₃L y
- 10
- (ii) que comprende además una región variable de la cadena ligera seleccionada del siguiente grupo:
- (1) la ID SEC NO: 24, o una variante de la ID SEC NO: 24, en donde el aminoácido en la posición 107 de la ID SEC NO:24 está sustituido con la sustitución: V₁₀₇L;
- 15
- (2) la ID SEC NO: 67, o una variante de la ID SEC NO: 67, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones: V₄₅L, V₇₀A y V₁₀₇L;
- (3) la ID SEC NO: 29, o una variante de la ID SEC NO: 29, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones en la secuencia de la ID SEC NO:29: R_sA, V₁₈I, L₄₉M, T₆₂N, L₈₁Q, y A₈₃E; y
- 20
- (4) la ID SEC NO: 69, o una variante de la ID SEC NO: 69, en donde al menos un aminoácido está sustituido por un aminoácido diferente seleccionado de las siguientes sustituciones en la secuencia de la ID SEC NO:69: R_sA, V₁₈I, L₄₉M, T₆₂N, L₈₁Q, A₈₃E y F_{ss}Y.
2. El anticuerpo aislado o fragmento de éste de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 3, en donde dicha región variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
- 25
- (i) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 12
- (ii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 13
- 30
- (iii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 14
- (iv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 15
- (v) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 16
- (vi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 17
- 35
- (vii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 18
- (viii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 19
- (ix) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 20,
- (x) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 11.
- 40
3. El anticuerpo aislado o fragmento de éste de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en donde la región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
- (i) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 67;
- 45
- (ii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 68;
- (iii) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 69; y
- (iv) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 70;
- 50
4. El anticuerpo aislado o fragmento de éste de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde una región variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
- (i) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 12
- 55
- (ii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 13
- (iii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 14
- (iv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 15
- (v) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 16
- (vi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 17
- 60
- (vii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 18
- (viii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 19
- (ix) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 20: y
- (x) la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 11 en donde una región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
- 65
- (xi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 24;
- (xii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 25;
- (xiii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 29;

- (xiv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 30:
 (xv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 57:
 (xvi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 58:
 5 (xvii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 59:
 (xviii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 60:
 (xix) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 61:
 (xx) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 62:
 (xxi) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 63:
 10 (xxii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 67:
 (xxiii) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 68:
 (xxiv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 69: y
 (xxv) la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 70:
5. El anticuerpo aislado o fragmento de éste, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en
 15 donde una región variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos con (a), y una
 región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos con (b) seleccionados de las
 combinaciones del grupo que consiste en:
- (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 24, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 20 SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 24, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 25, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 25 SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 25, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 29, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20;
 30 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 29, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 30, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 30, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 35 SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 57, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 57, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56;
 40 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 58, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 58, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 59, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 45 SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 59, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 60, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20;
 50 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 60, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 61, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 61, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 55 SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 62, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 62, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56;
 60 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 63, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 63, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 67, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 65 SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20;
 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 67, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID
 SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56;

- (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 68, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20;
- (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 68, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56;
- 5 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 69, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20;
- (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 69, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56;
- 10 (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 70, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20; y
- (b): la secuencia de aminoácidos ID SEC NO: 70, y (a): la secuencia de aminoácidos seleccionada de la ID SEC NO: 48, 53, 54, 55 y 56.
6. El anticuerpo aislado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde dicho anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada de ID SEC NO: 19 y una región variable de la cadena ligera de ID SEC NO: 70.
- 15 7. El anticuerpo aislado o fragmento de éste de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende además una región constante humana, en particular de un isotipo IgG, tal como un isotipo IgG4 que comprende una región constante de la cadena pesada humana de la ID SEC NO: 40, y una región constante de la cadena ligera humana de la ID SEC NO: 66.
- 20 8. El anticuerpo aislado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que es un anticuerpo monoclonal humano.
- 25 9. Un anticuerpo o fragmento de éste de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para uso como un medicamento.
- 30 10. Una molécula de ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
- 35 11. Un vector de expresión recombinante que comprende una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 10.
- 40 12. Una célula huésped que comprende un vector recombinante de acuerdo con la reivindicación 11.
13. Una composición farmacéutica que comprende uno o más de lo siguiente: (i) un anticuerpo específico para MMP9 o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, (ii) un ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 10, (iii) un vector de acuerdo con la reivindicación 11, y/o (iv) una célula huésped de acuerdo con la reivindicación 12, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.
- 45 14. El anticuerpo o fragmento de éste de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para uso en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad seleccionada de enfermedades inflamatorias y autoinmunes, enfermedades inflamatorias del intestino, cánceres o tumores, enfermedades fibróticas, enfermedades cardiovasculares, trastornos neurológicos o enfermedades oculares.
- 50 15. El anticuerpo o fragmento de éste para uso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde la enfermedad inflamatoria del intestino es la enfermedad de Crohn, en particular la enfermedad de Crohn fistulizante.
16. Un método *ex-vivo* para detectar la presencia y/o concentración de la proteína MMP9 en una muestra biológica, que comprende los pasos de:
- 55 (i) proporcionar una muestra biológica de un individuo,
- (ii) hacer reaccionar dicha muestra biológica con al menos un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de éste de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en condiciones suficientes para unir la proteína MMP9 presente en dicha muestra biológica a dicho al menos un anticuerpo o fragmento de éste a través de interacciones antígeno-anticuerpo; y
- 60 (iii) detectar una señal proporcional al nivel del complejo antígeno-anticuerpo formado en el paso (ii),
- en donde la intensidad de la señal se correlaciona con la concentración de la proteína MMP9 en la muestra biológica.

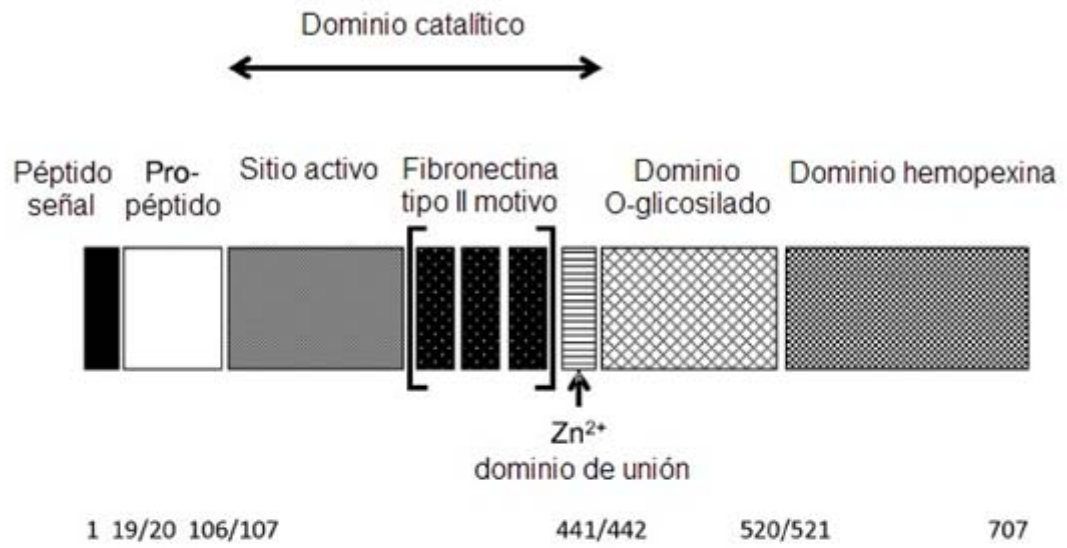


Figura 1

Humano	-----MSLWQ
<u>Cyno</u>	MLGLPHTHTHTHTHTPCPLSQHLFVKEGWGHRASALKPPQQQLQSDTAALTMSLWQ
Rata	-----MSFWQ
Ratón	-----MSPWQ
	** **
Humano	PLVVLVLVLCCEAAPRQRQSTLVLPFGDLRTN-LTDRQLAEELYRYGYTRVAEMRGES
<u>Cyno</u>	PLVLALLVLGCCCAAPRQRQSTLVLPFGDLKTN-LTDRQLAEDYLYRYGYTRVAEMHGDS
Rata	PLLLVLLALGYSAAPHQRQPTVVPFRDLKTSNLTDTQLAEEDYLYRYGYTRAAQMMGEK
Ratón	PLLLALLAFGCSSAAPYQRQPTFVVPFKDLKTSNLTDTQLAEAYLYRYGYTRAAQMMGEK
	:*:*:* . * ***. * : ** ** . *** ** . *** ** . *** ** . *** ** .
Humano	KSLGPALLLQKQLSLPETGELDSATLKAMRTPRCGVPDLGRFQTFEGDLKWHHHNITYW
<u>Cyno</u>	KSLGPALLLQKQLSLPQTGELDSATLKAMRTPRCGVPDLGRFQTFEGDLKWHHHNITYW
Rata	QSLRPALIMLQKQLSLPQTGELDSETLKAIRSPRCGVPDVGKFKQTFDGDLLKWHHHNITYW
Ratón	QSLRPALIMLQKQLSLPQTGELDSQTLKAIPTPRCGVPDVGRFQTFKG-LKWDHHNITYW
	:** ** ** : ** ** : ** ** : ** ** : ** ** : ** ** : ** ** : ** ** . *** ** . *** ** .
Humano	IQNYSEDLPRVIDDAFARAFALMSAVTPLTFTTRVYSRDADIVIQFGVAEHGDDGYPPFDGK
<u>Cyno</u>	IQNYSEDLPRAVIEDAFARAFALMSAVTPLTFTTRVYSRDADIVIQFGVAEHGDDGYPPFDGK
Rata	IQSYTEDLPRDVIDDSFARAFAVWSAVTPLTFTTRVYGLEADIVIQFGVAEHGDDGYPPFDGK
Ratón	IQNYSEDLPRDMIDDAFARAFAVWGEVAPLTFTRVYGEADIVIQFGVAEHGDDGYPPFDGK
	.*:* ** :*:*** ** :*:*** ** :*:*** ** :*:*** ** :*:*** ** :*:*** **
Humano	DGLLAHAFPPGPGIQGDAHFDDELSLGLKGVVPTFRGNADGAACHFFPFFEGRSYSAC
<u>Cyno</u>	DGLLAHAFPPGPGIQGDAHFDDELSLGLKGVVPTFRGNADGAACHFFPFFEGRSYSAC
Rata	DGLLAHAFPPGPGIQGDAHFDDELSLGLKGVVPTFRGNANGAPCHFFPFFEGRSYLSC
Ratón	DGLLAHAFPPGAGVQGDHFDDELSLGLKGVVPTTYGNSNGAPCHFFPFFEGRSYSAC
	*****.*:*****.*:*****.*:*****.*:*****.*:*****.*:*****.*:*****.*

Figura 2

	CDR1	CDR2
* F20 - VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFN	DIYPMHWRQAPGKGL
* F20 - VH - GL1	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFN	DIYPMHWRQAPGKGL
* F20 - VH - GL1 - V1 - V9	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFN	DIYPMHWRQAPGKGL
* F20 - VH - GL1 - V1 - V9 - V14	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFN	DIYPMHWRQAPGKGL
* F20 - VH - GL1 - V4 - V9	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFN	DIYPMHWRQAPGKGL
* F20 - VH - GL1 - V4 - V9 - V14	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFN	DIYPMHWRQAPGKGL
	*****	*****
	CDR3	
* F20 - VH	ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR	DEDTAVYCARDKIYYGSGSYDF
* F20 - VH - GL1	ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR	AEEDTALYCARDKIYYGSGSYDF
* F20 - VH - GL1 - V1 - V9	ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR	AEEDTALYCARDKIYYGSGSYDF
* F20 - VH - GL1 - V1 - V9 - V14	ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR	AEEDTALYCARDKIYYGSGSYDF
* F20 - VH - GL1 - V4 - V9	ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR	AEEDTALYCARDKIYYGSGSYDF
* F20 - VH - GL1 - V4 - V9 - V14	ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR	AEEDTALYCARDKIYYGSGSYDF
	*****	*****
		CDR3
* F20 - VH	QGT	TIVSSASTKGPSVFP
* F20 - VH - GL1	QGT	TIVSSASTKGPSVFP
* F20 - VH - GL1 - V1 - V9	QGT	TIVSSASTKGPSVFP
* F20 - VH - GL1 - V1 - V9 - V14	QGT	TIVSSASTKGPSVFP
* F20 - VH - GL1 - V4 - V9	QGT	TIVSSASTKGPSVFP
* F20 - VH - GL1 - V4 - V9 - V14	QGT	TIVSSASTKGPSVFP
	*****	*****

Figura 3

```

*F20-VH      TFPVAVLQSSGLYSLSSVVTVPSLSSLTGKTYTCNVVDHKPSNTKVDKRKVESKYGPPCPPCPA
*F20-VH-GL1  TFPVAVLQSSGLYSLSSVVTVPSLSSLTGKTYTCNVVDHKPSNTKVDKRKVESKYGPPCPPCPA
*F20-VH-GL1-V1-V9  TFPVAVLQSSGLYSLSSVVTVPSLSSLTGKTYTCNVVDHKPSNTKVDKRKVESKYGPPCPPCPA
*F20-VH-GL1-V1-V9-V14  TFPVAVLQSSGLYSLSSVVTVPSLSSLTGKTYTCNVVDHKPSNTKVDKRKVESKYGPPCPPCPA
*F20-VH-GL1-V4-V9  TFPVAVLQSSGLYSLSSVVTVPSLSSLTGKTYTCNVVDHKPSNTKVDKRKVESKYGPPCPPCPA
*F20-VH-GL1-V4-V9-V14  TFPVAVLQSSGLYSLSSVVTVPSLSSLTGKTYTCNVVDHKPSNTKVDKRKVESKYGPPCPPCPA
*****

*F20-VH      PEFLGGPSVFLFPPKPKDTIMI SRTPEVTCVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
*F20-VH-GL1  PEFLGGPSVFLFPPKPKDTIMI SRTPEVTCVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
*F20-VH-GL1-V1-V9  PEFLGGPSVFLFPPKPKDTIMI SRTPEVTCVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
*F20-VH-GL1-V1-V9-V14  PEFLGGPSVFLFPPKPKDTIMI SRTPEVTCVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
*F20-VH-GL1-V4-V9  PEFLGGPSVFLFPPKPKDTIMI SRTPEVTCVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
*F20-VH-GL1-V4-V9-V14  PEFLGGPSVFLFPPKPKDTIMI SRTPEVTCVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
*****

*F20-VH      REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTL
*F20-VH-GL1  REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTL
*F20-VH-GL1-V1-V9  REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTL
*F20-VH-GL1-V1-V9-V14  REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTL
*F20-VH-GL1-V4-V9  REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTL
*F20-VH-GL1-V4-V9-V14  REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTL
*****

```

Figura 3 (continuación)

	CDR1	CDR2
*B03-VL		SSELTQDPAVSVLGGQTVRITCGD <u>SLRSYYASWYQQKPGQAPVVVIYGKNNRPSG</u> IPDR
*B03-VL-GL1		SSELTQDPAVSVLGGQTVRITCGD <u>SLRSYYASWYQQKPGQAPVVVIYGKNNRPSG</u> IPDR

	CDR3	
*B03-VL		FSGSSGNTVSLTITGAQAED <u>EADYYCQSRDNI</u> GNHRVVLFGGGTKVTVLGGQPKAAPSVT
*B03-VL-GL1		FSGSSGNTVSLTITGAQAED <u>EADYYCQSRDNI</u> GNHRVVLFGGGTKVTVLGGQPKAAPSVT
		*****:*****
*B03-VL		LFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKKYAASS
*B03-VL-GL1		LFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKKYAASS

*B03-VL		YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
*B03-VL-GL1		YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Figura 4

	CDR1	CDR2
*B08-VL	QSALTPRSVSGSPGQSVTISCTGTSNDVGAYNRVSWYQQHPGKAPKLLIYGVSNRPSGV	
*B08-VL-GL6	QSALTPASVSGSPGQSVTISCTGTSNDVGAYNRVSWYQQHPGKAPKIMIYGVSNRPSGV	
	*****:*****;	*****
	CDR3	
*B08-VL	STFSGKSGNTASLTISGLLADEADFYCTSYSSSTTSYVVFSGGKVTVLGQPKAAPS	
*B08-VL-GL6	SNRFGSKSGNTASLTISGLQAEADFYCTSYSSSTTSYVVFSGGKVTVLGQPKAAPS	
	*.***** * *****	*****
*B08-VL	VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYYAA	
*B08-VL-GL6	VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYYAA	
	*****	*****
*B08-VL	SSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	
*B08-VL-GL6	SSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	
	*****	*****

Figura 5

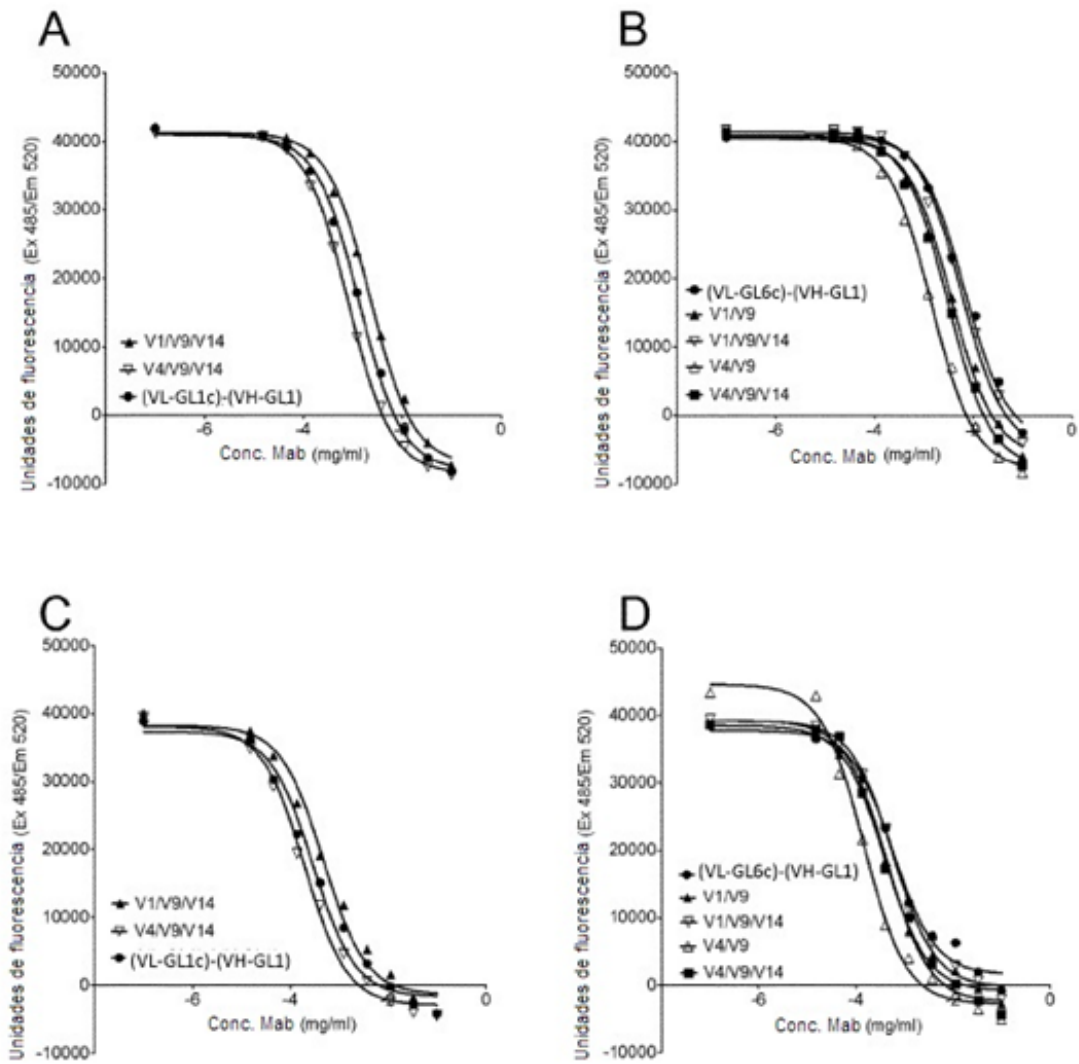


Figura 6

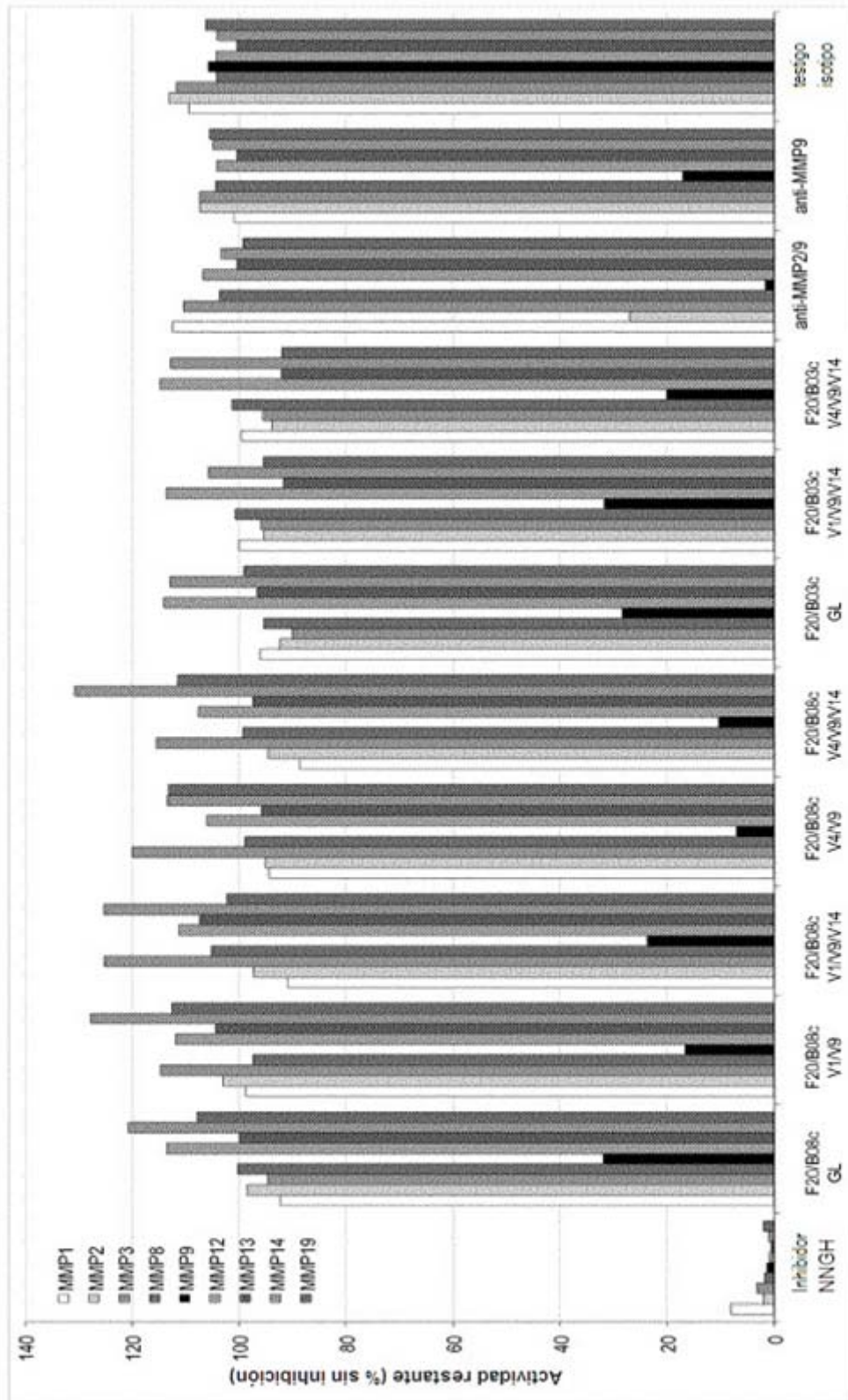


Figura 7

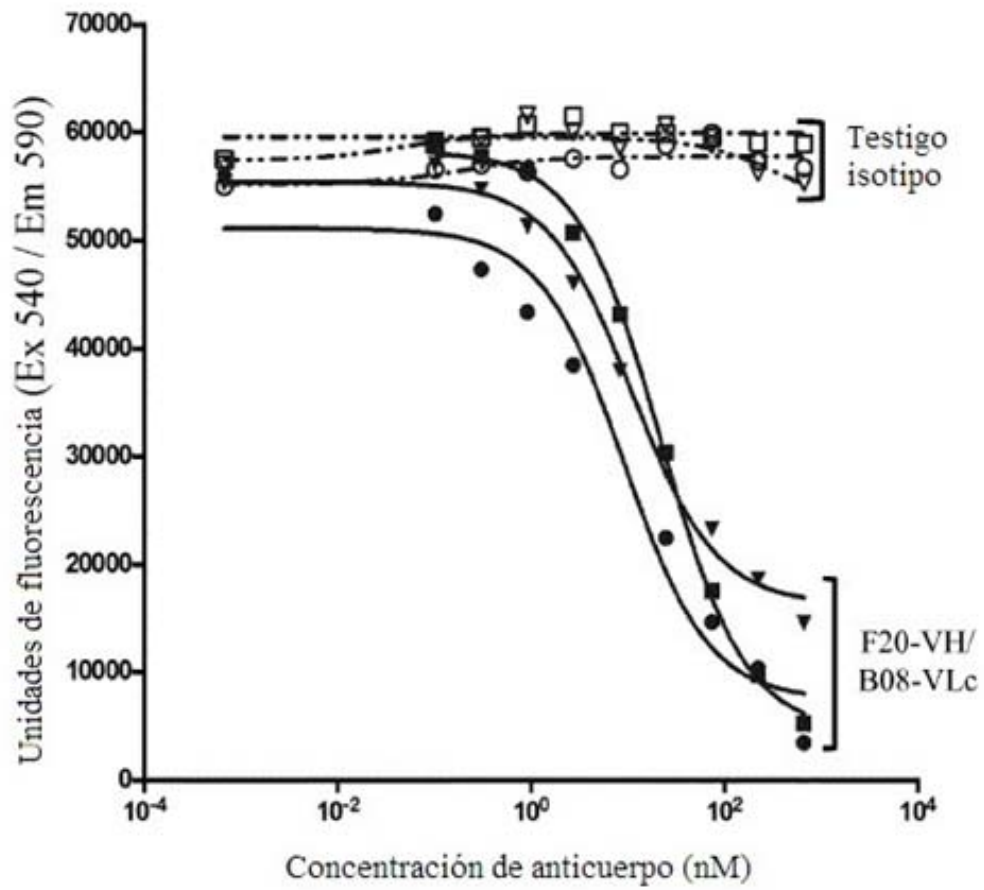


Figura 8

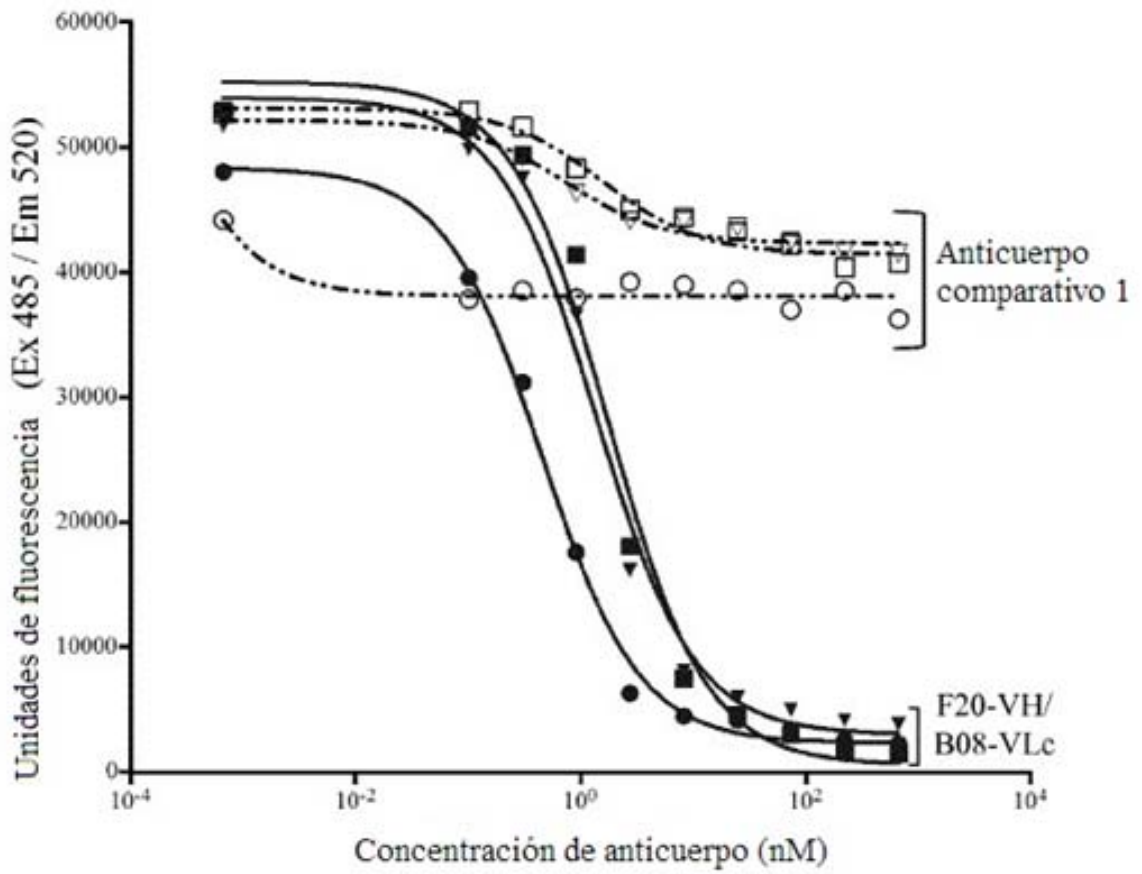


Figura 9

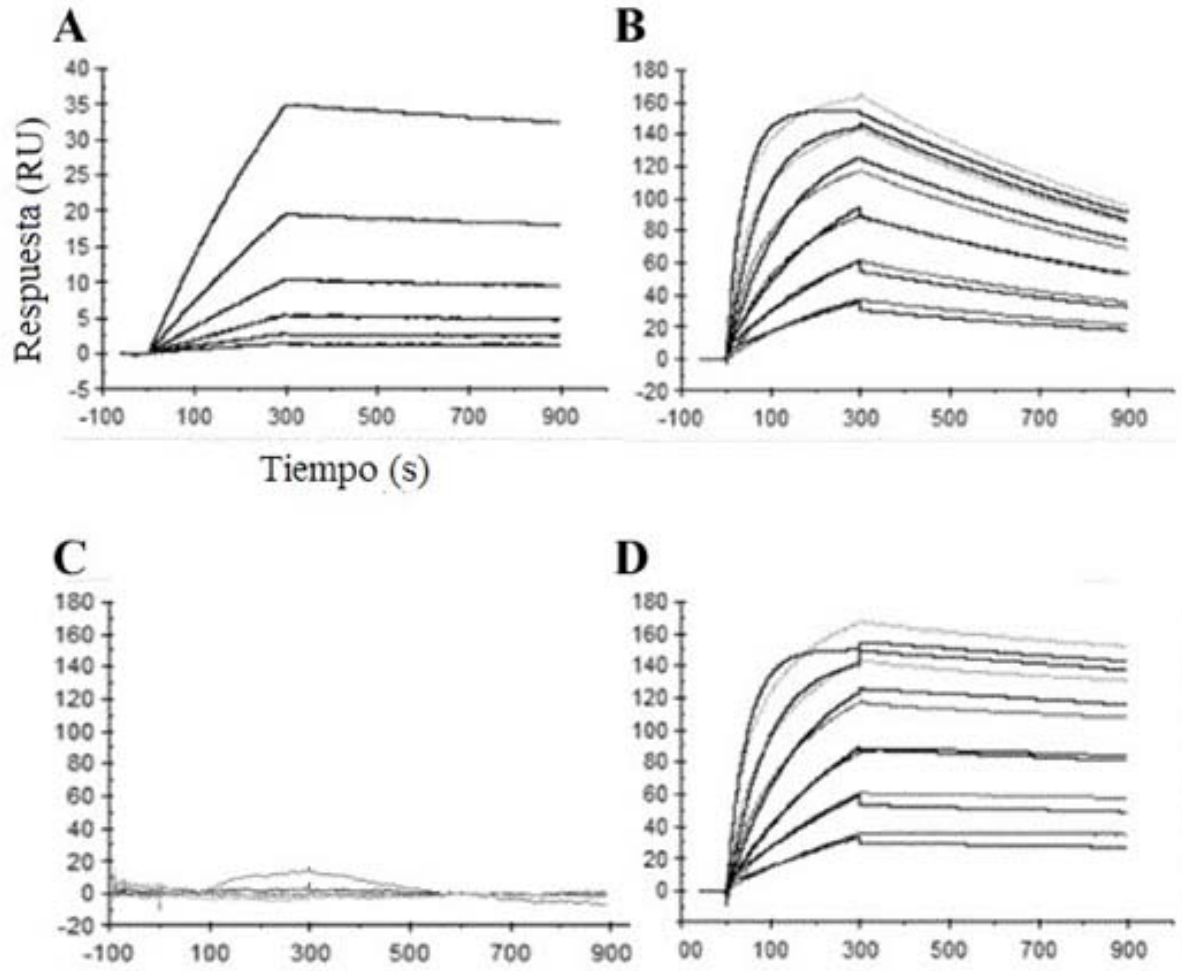


Figura 10

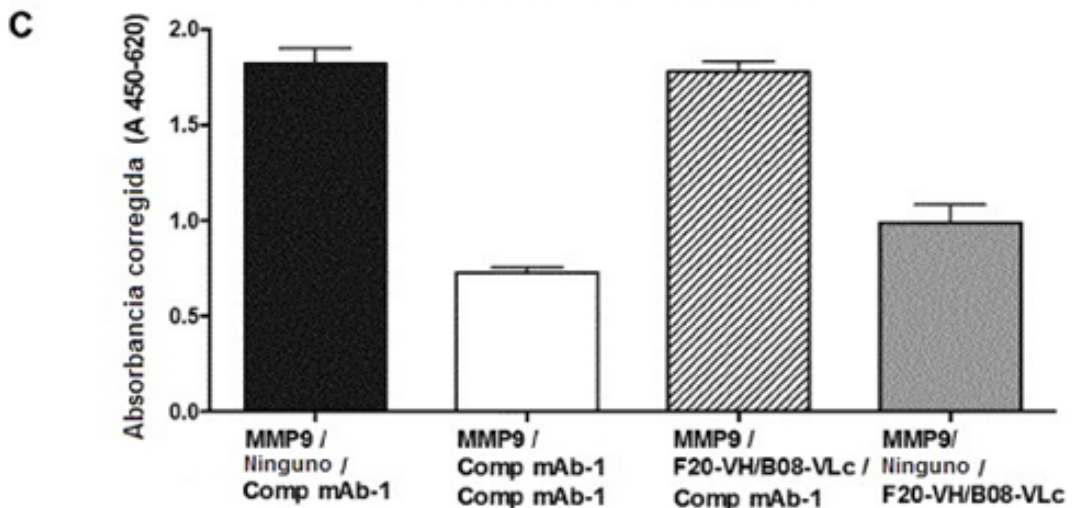
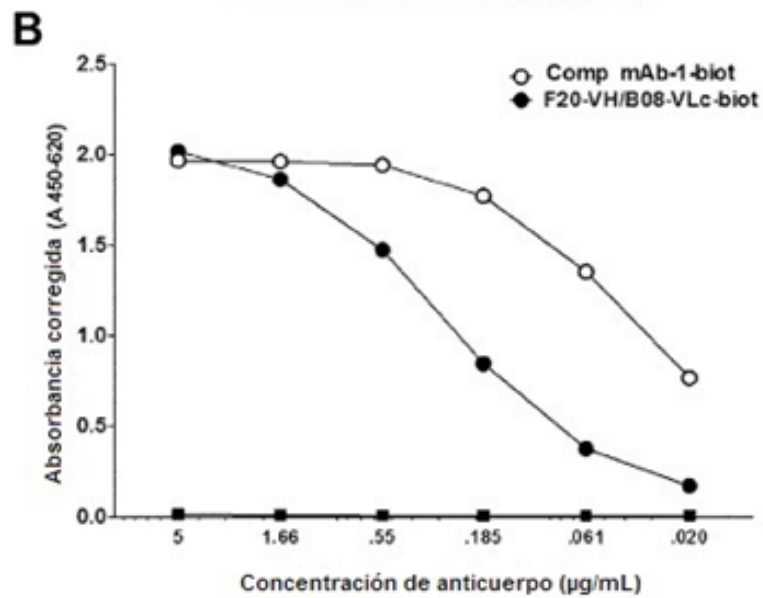
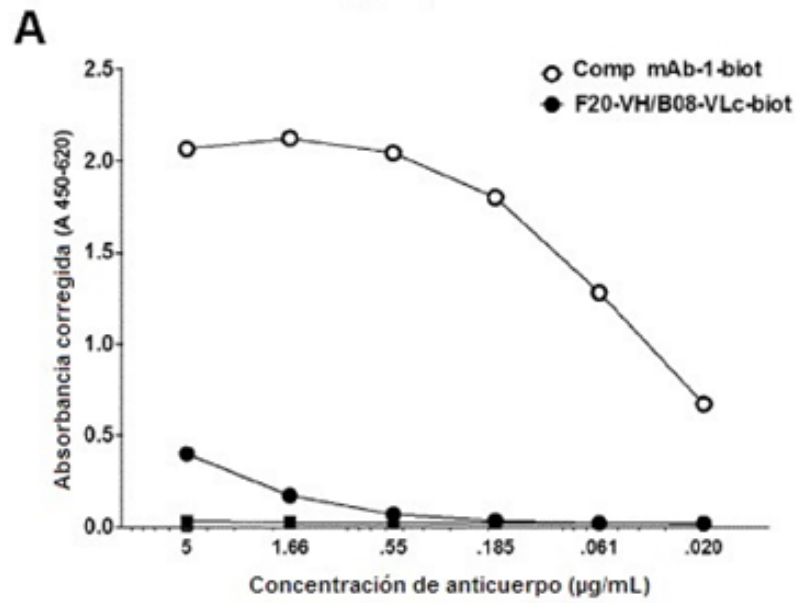


Figura 11

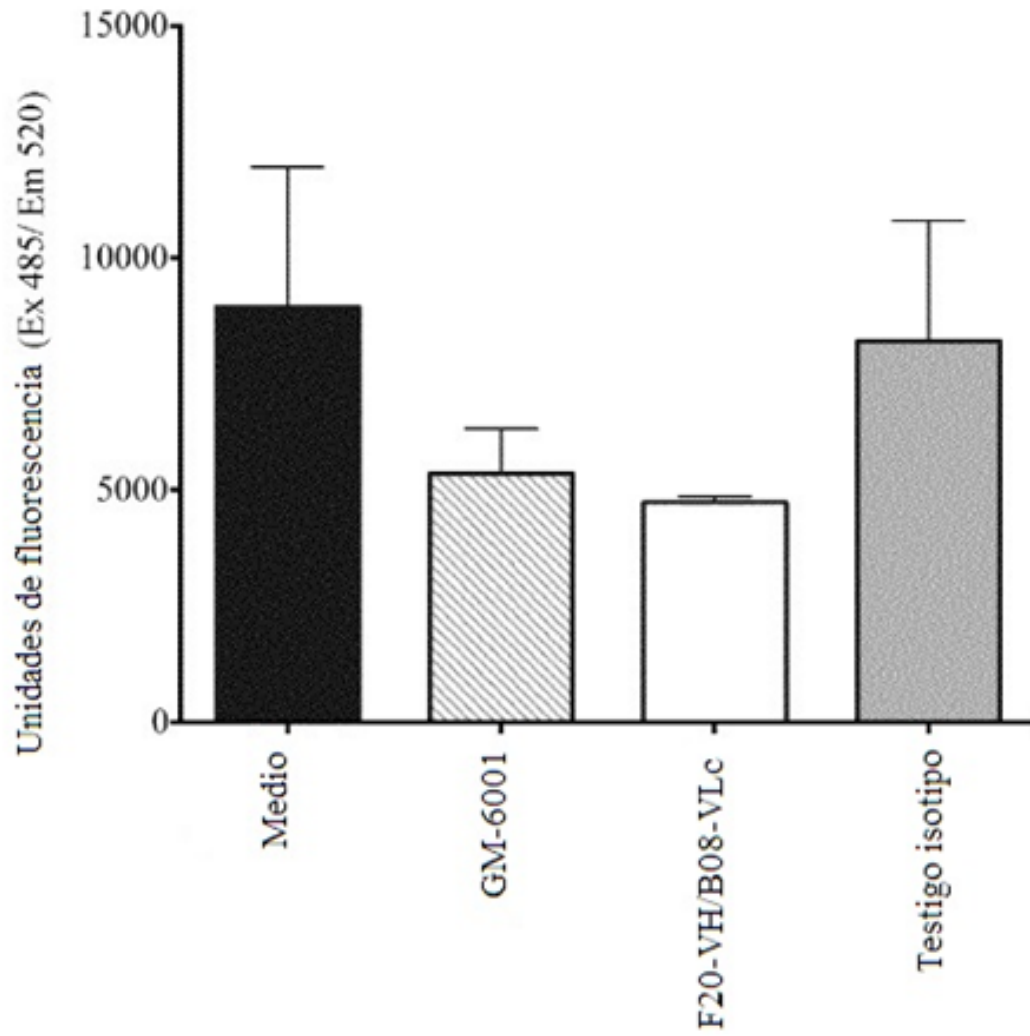


Figura 12

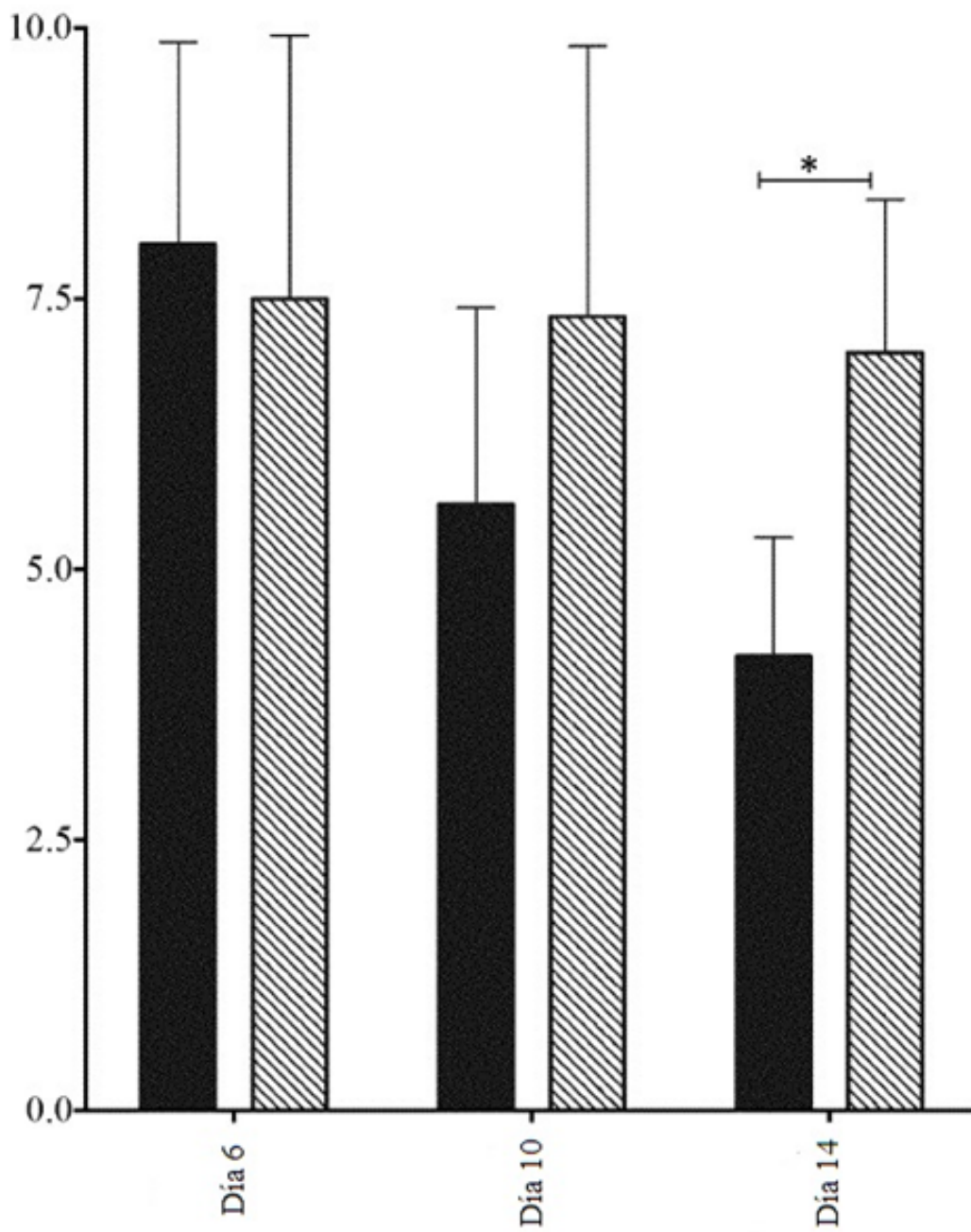


Figura 13

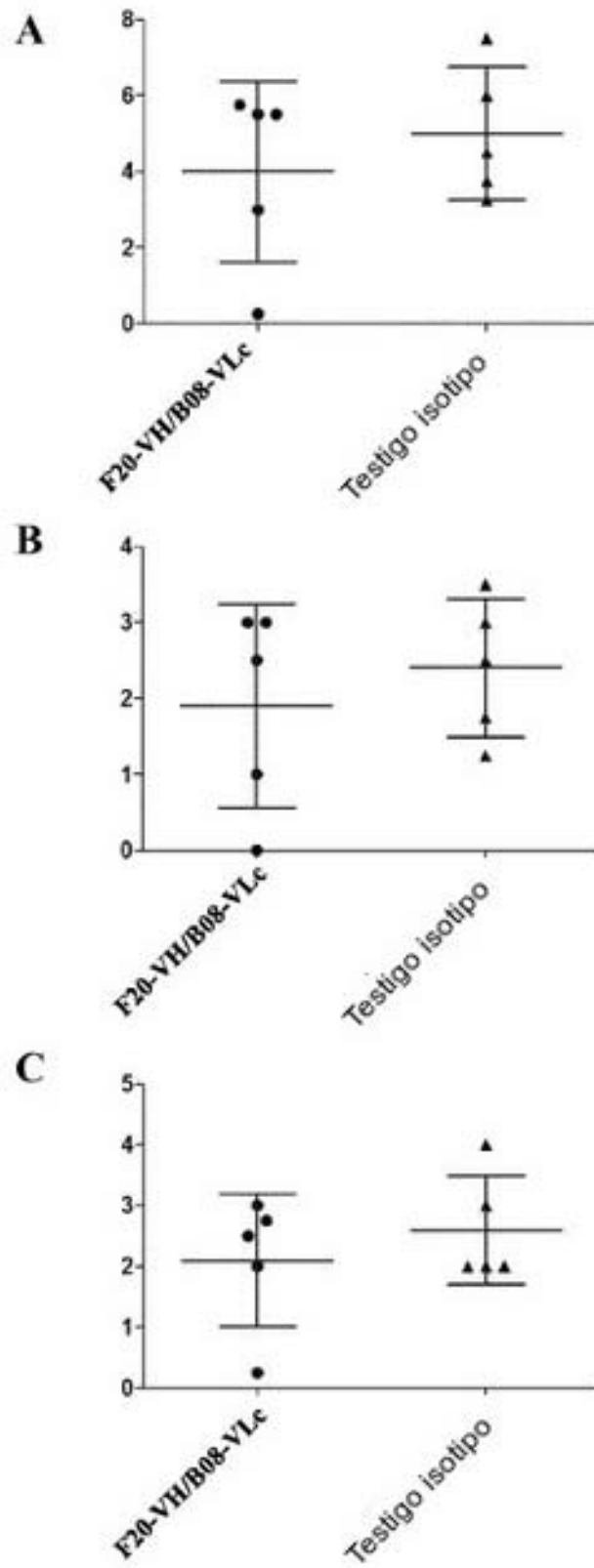


Figura 14

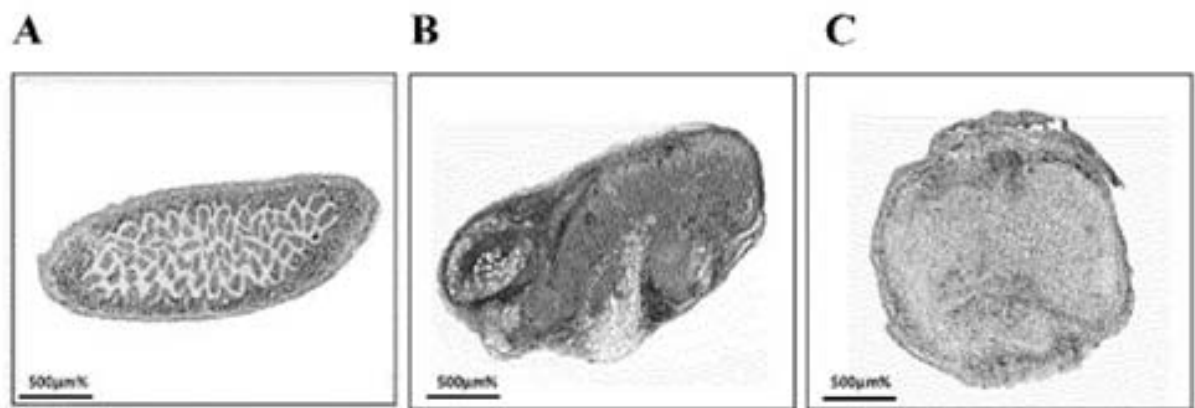


Figura 15

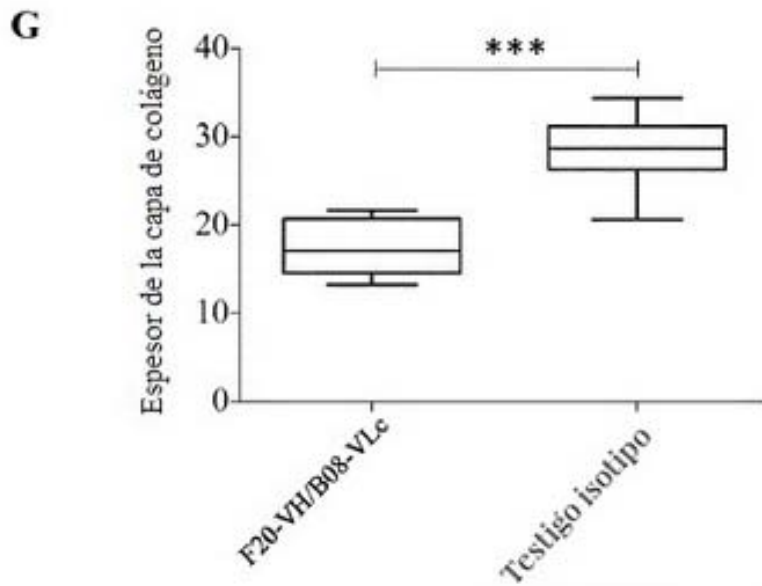
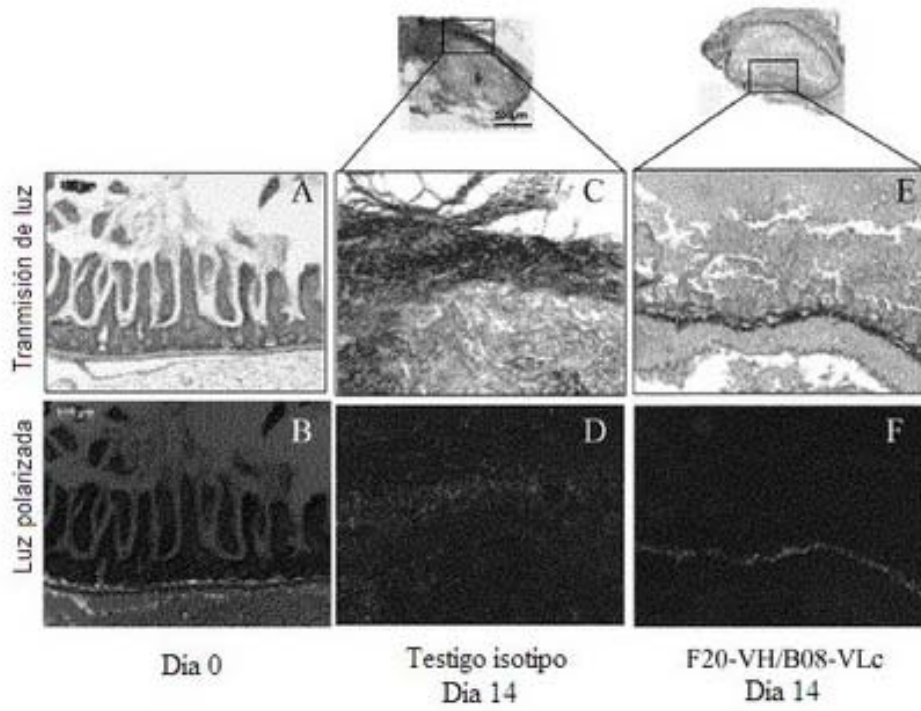


Figura 16