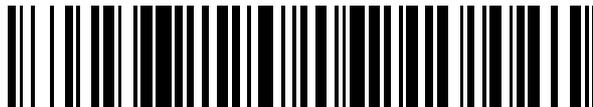


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 788 183**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2012 E 17174348 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.02.2020 EP 3232202**

54 Título: **Anticuerpo anti-proteína tirosina fosfatasa de tipo receptor humana**

30 Prioridad:

28.04.2011 JP 2011101752

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

20.10.2020

73 Titular/es:

**SBI BIOTECH CO., LTD. (100.0%)
1-6-1, Roppongi, Minato-ku
Tokyo 106-6015, JP**

72 Inventor/es:

**YAMAZAKI, TOMOHIDE;
ZHAO, JING;
ISHIDA, KOJI;
SHIBATA, YASUE;
CHO, MINKWON y
ENDO, MAYUKI**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

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

ES 2 788 183 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

Anticuerpo anti-proteína tirosina fosfatasa de tipo receptor humana

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un anticuerpo que se une con la proteína tirosina fosfatasa de tipo receptor humano σ . En lo sucesivo en la presente memoria, la "proteína tirosina fosfatasa" se abrevia como PTP, "proteína tirosina fosfatasa de tipo receptor" se abrevia como RPTP o PTPR, "proteína tirosina fosfatasa de tipo receptor σ " se abrevia en ocasiones como RPTP- σ , PTP- σ o PTPRS y "humana" y "de ratón" a veces se representan con los prefijos h y m, respectivamente.

Antecedentes de la técnica

10 Los interferones (en lo sucesivo en la presente memoria "interferón" se abrevia en ocasiones como IFN) son las citocinas más importantes en la respuesta inmunitaria antivírica. Una célula productora de interferón (CPI: CPI es una célula dendrítica linfocítica indiferenciada que se sitúa como una célula precursora de una célula dendrítica (CD). La CPI también se denomina en ocasiones célula dendrítica plasmacitoide o célula dendrítica de tipo célula plasmática (célula dendrítica plasmacitoide: pCD). En lo sucesivo en la presente memoria, se considera que CPI y pCD tienen el mismo significado en la presente memoria y en lo sucesivo en la presente memoria se uniforman por el término pCD como norma general. Una pCD en sangre humana expresa una proteína del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II junto con CD4. Sin embargo, ya que el número de dichas células es pequeño y las células provocan rápidamente apoptosis y carecen de un marcador de linaje, esas células no se han aislado o caracterizado en detalle hasta ahora. Se ha demostrado que la pCD es una célula precursora de células dendríticas de tipo CD4+CD11c-2 y que produce IFN de 200 a 1000 veces mayor que el producido por otras células sanguíneas después de la estimulación por un microorganismo. Por lo tanto, la pCD2 es una célula efectora decisiva del sistema inmunitario en respuestas inmunitarias antivíricas y antitumorales.

25 IFN α e IFN β se conocen como IFN de tipo I que tienen una actividad antivírica o antitumoral. Por otro lado, se aclaró que IFN α está relacionado con enfermedades autoinmunitarias. Por ejemplo, se ha informado de producción anómala de IFN α en pacientes que padecen las siguientes enfermedades autoinmunitarias. Asimismo, se ha sugerido la posibilidad de aliviar una afección autoinmunitaria neutralizando IFN α .

30 Se ha informado de lupus eritematoso sistémico (Shiozawa *et al.*, *Arthr. & Rheum.* 35, 412, 1992) y artritis reumatoide crónica (Hopkins *et al.*, *Clin. Exp. Immunol* 73, 88, 1988) y, asimismo, ejemplos en los que se expresó o deterioró una condición de una enfermedad autoinmunitaria mediante la administración de IFN o IFN α 2 recombinante (Wada *et al.*, *Am. J. Gastroenterol.* 90, 136, 1995; Perez *et al.*, *Am. J. Hematol.* 49, 365, 1995; Wilson LE *et al.*, *Semin Arthritis, Rheum.* 32, 163-173, 2002).

35 Asimismo, también se ha aclarado que IFN α induce la diferenciación de una célula dendrítica (CD). Ya que una célula dendrítica también es una célula presentadora de antígenos, se considera que la inducción de la diferenciación de una célula dendrítica constituye un mecanismo importante en enfermedades autoinmunitarias. De hecho, se ha sugerido que la inducción de la diferenciación de una célula dendrítica de IFN α está íntimamente relacionada con la aparición de lupus eritematoso sistémico (Blanco *et al.*, *Science*, 16: 294, 1540-1543, 2001). Por lo tanto, se ha señalado la actividad antitumoral y la relación íntima con enfermedades autoinmunitarias de IFN α . Asimismo, IFN α también está íntimamente relacionado con la aparición de psoriasis (Nestle FO *et al.*, *J. Exp. Med.* 202, 135-143, 2005).

40 Solo está presente una pequeña cantidad de pCD en la sangre. Se considera que la relación de pCD en linfocitos de sangre periférica es de 1 % o menos. Sin embargo, pCD tiene una capacidad extremadamente alta de producir IFN. La capacidad de pCD para producir IFN alcanza, por ejemplo, 3.000 pg/mF/10⁴ células. Concretamente, se puede considerar que, aunque el número de células es pequeño, la mayor parte de IFN α o IFN β en sangre es producida por pCD durante infección vírica.

45 La pCD se diferencia en una célula dendrítica por estimulación vírica para inducir la producción de IFN- γ e IF-10 por un linfocito T. Asimismo, la pCD también se diferencia en una célula dendrítica por la estimulación de IL-3. La célula dendrítica diferenciada por la estimulación de IL-3 induce la producción de citocinas Th2 (IL-4, IL-5, IL-10) por un linfocito T. Por tanto, La pCD tiene la característica de diferenciarse en diferentes células dendríticas dependiendo de la diferencia de estimulación.

50 Por lo tanto, la pCD es una célula que tiene dos aspectos: uno es un aspecto como célula productora de IFN y otro es un aspecto como célula precursora de una célula dendrítica. Ambas células desempeñan papeles importantes en un sistema inmunitario. Concretamente, la pCD es una de las células importantes que respaldan un sistema inmunitario desde diversos aspectos.

55 Para el control de la actividad de un factor humoral tal como IFN, la administración de un anticuerpo que reconoce el factor es eficaz. Por ejemplo, se ha puesto en práctica un intento de tratar una enfermedad autoinmunitaria mediante un anticuerpo contra interleucina (IL)-1 o IL-4 (Guler *et al.*, *Arthritis Rheum*, 44, S307, 2001). Asimismo, se considera que un anticuerpo neutralizado puede convertirse en un fármaco terapéutico para enfermedades autoinmunitarias

también en interferones (IFN) (Stewart, TA. Cytokine Growth Factor Rev. 14; 139-154, 2003). Se puede esperar que un enfoque similar sea eficaz para IFN producidos por pCD. Sin embargo, dicho enfoque se basa en la inhibición de la acción del factor humoral producido. Si la producción de un factor humoral objetivo puede controlarse directamente, se puede lograr un efecto terapéutico más esencial.

5 Se ha informado de un anticuerpo que reconoce pCD humana. Por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-BDCA-2 es un anticuerpo monoclonal que es específico para pCD humana (Dzionek A. *et al.*, J. Immunol 165: 6037-6046, 2000). Se ha aclarado que el anticuerpo monoclonal anti-BDCA-2 tiene una acción de supresión de la producción de IFN de pCD humana (J. Exp. Med. 194: 1823-1834, 2001). Asimismo, también se ha informado de que un anticuerpo monoclonal que reconoce una célula productora de interferón de ratón suprime la producción de interferones (Blood 1
10 de junio de 2004; 103/11: 4201-4206. Epub diciembre 2003). Se ha informado de que un anticuerpo monoclonal contra pCD de ratón disminuyó el número de células dendríticas (J. Immunol. 2003, 171: 6466-6477).

Es útil si se proporciona un anticuerpo que reconoce de manera similar pCD humana y puede controlar la actividad de la misma. Por ejemplo, los presentes inventores ya han aclarado que un anticuerpo que reconoce Ly49Q se une específicamente con pCD de ratón. Sin embargo, un anticuerpo contra Ly49Q no interfirió en la actividad de pCD de ratón (Blood, 1 de abril de 2005, vol. 105, n.º 7, págs. 2787-2792: documento WO2004/13325A1).
15

Las proteína fosfatasas son enzimas desfosforilantes que se encontraron en los estudios del metabolismo del glucógeno. Además de la proteína tirosina fosfatasa (PTP), se han encontrado proteína serina/treonina fosfatasa, fosfatasa específica de fosfolípidos y similares, y estas forman una superfamilia de proteína fosfatasas. De estas, la proteína tirosina fosfatasa es una enzima que es responsable de la desfosforilación entre las modificaciones de fosforilación reversibles que se observan en los restos de tirosina de proteínas. Por otro lado, la proteína tirosina cinasa (PTK) se ilustra como una enzima que es responsable de la fosforilación entre las modificaciones de fosforilación reversibles que se observan en los restos de tirosina de proteínas.
20

La proteína tirosina fosfatasa (PTP) convierte la información de unión de un ligando en un dominio extracelular del mismo en la actividad fosfatasa de un dominio intracelular y se considera que la proteína tirosina cinasa (PTK) se activa mediante la unión de un ligando, mientras que la proteína tirosina fosfatasa (PTP) generalmente se inactiva mediante la unión de un ligando. Por lo tanto, tanto en la proteína tirosina fosfatasa (PTP) como en la proteína tirosina cinasa (PTK), la estimulación de un ligando conduce a un aumento en el nivel de fosforilación, mientras que se espera una gran diferencia en las propiedades de señal. En el caso de la proteína tirosina cinasa (PTK), se realiza un control de retroalimentación positiva en el que los receptores se fosforilan entre sí y se activan, y la activación tóxica de las moléculas de proteína tirosina cinasa (PTK) se transmite a otras moléculas de proteína tirosina cinasa (PTK) en una membrana celular, de modo que la fosforilación aumenta en un amplio intervalo. Por otro lado, solo las moléculas a las que se han unido ligandos se inactivan en la proteína tirosina fosfatasa (PTP) y la fosforilación del sustrato aumenta solo de manera local. La proteína tirosina fosfatasa (PTP) que está implicada en muchas funciones fisiológicas y funciones celulares recibe mucha atención en amplias áreas de la neurobioquímica cerebral, inmunología, cánceres, diabetes mellitus y similares (copia de la página de inicio de la División de Neurobiología Molecular, Instituto Nacional de Biología Básica, <http://niwww3.nibb.ac.jp/RPTP.pdf>).
25
30
35

La familia de la proteína tirosina fosfatasa se puede clasificar en un tipo receptor que tiene una región de penetración de membrana celular y un tipo no receptor. Hay 21 moléculas de proteína tirosina fosfatasas de tipo receptor (también abreviadas como RPTP o PTPR) en mamíferos, que se clasifican en ocho subfamilias y cada subfamilia tiene una estructura extracelular inherente en la que se observan un dominio de tipo inmunoglobulina, un dominio de tipo fibronectina de tipo III, un dominio de tipo carbonato deshidratasa, un dominio MAM y similares (Nat Rev Mol Cell Biol., Vol. 7, 833-846, 2006).
40

La proteína tirosina fosfatasa σ de tipo receptor humano (esta se abrevia como hRPTP- σ , hPTP- σ o hPTPRS, y la abreviatura hPTPRS que se usa principalmente en la presente memoria) pertenece a una subfamilia R2A junto con LAR (proteína tirosina fosfatasa relacionada con antígenos leucocitarios) y proteína tirosina fosfatasa δ (PTP- δ) de tipo receptor. Las enzimas de la familia PTPR se expresan en diversos tejidos, incluyendo los sistemas nerviosos desde el inicio de la generación hasta después de la maduración de los animales, pero se han aclarado pocas funciones fisiológicas de las mismas ya que la identificación de moléculas de ligando y moléculas de sustrato no es fácil.
45

Las células dendríticas (CD) son células presentadoras de antígenos importantes en un cuerpo vivo, que están presentes en sangre, tejidos linfoides y similares y se clasifican aproximadamente en células dendríticas mieloides (mCD) y células dendríticas plasmacitoides (pCD). La pCD expresa de manera selectiva TLR7 y TLR9 como receptores de tipo Toll en las superficies celulares de las mismas y produce interferones α y β de tipo I, específicamente interferón α .
50

Los estudios recientes han aclarado diversas moléculas de ligando que actúan sobre células dendríticas para controlar su maduración y activación y se han aclarado los mecanismos de transmisión de señal intracelular de los receptores de las mismas. Sin embargo, existen muchos puntos poco claros sobre los mecanismos de modificación y control de las funciones de células dendríticas. De manera similar a la aclaración en muchas otras células, se considera que la fosforilación de proteínas desempeña un papel importante también en células dendríticas para el control de la transmisión de señales desde receptores, de movimiento/migración de células y similares.
55

Las proteína fosfatasas que son factores de control negativos para la fosforilación de proteínas son candidatos dominantes como factores para mantener intensidades y longitudes adecuadas de señales para modular la activación y las funciones de células dendríticas. (Nobuhiro Tanuma (Instituto de Medicina Genética, Universidad de Hokkaido), "Functional Analysis Of Tyrosine Phosphatase Induced in Maturing of Dendritic Cells" en la página principal del Centro de Avance de Ciencia y Tecnología del Norte (abreviatura: NOASTEC), http://www.noastec.jp/kinouindex/data2005/pdf/01/01_20.pdf).

La publicación internacional n.º WO95/9656A1 describe RPTP- σ (PTPRS) y un ácido nucleico que la codifica; sin embargo, la secuencia de aminoácidos descrita es una procedente de una rata y la publicación no menciona un anticuerpo específico para PTPRS. La publicación internacional n.º WO95/9656A1 tampoco describe un anticuerpo anti-PTPRS humana.

La publicación internacional n.º WO2007/41317A1 se refiere a un anticuerpo aislado que se une específicamente con al menos RPTP- σ o RPTP- δ para suprimir la respuesta inmunitaria de una célula inmunitaria o un fragmento de unión a antígeno del mismo. El documento describe que la unión del polipéptido de poxvirus A41L y RPTP se inhibe de manera competitiva mediante el uso de un anticuerpo que se une específicamente con RPTP, de este modo se logra supresión de la respuesta inmunitaria de una célula inmunitaria. Sin embargo, este documento no describe que el anticuerpo que se une específicamente con RPTP- σ (PTPRS) se obtuvo realmente y, en la medida en que se tiene en cuenta la descripción de los ejemplos, los ejemplos simplemente confirmaron que RPTP expresada en una célula inmunitaria que se une con A41L es parte de RPTP- σ , RPTP- δ y LAR que pertenecen al mismo subtipo R2A y prepararon una proteína de fusión del dominio de tipo inmunoglobulina de LAR y Fc (proteína de fusión LAR (dominio Ig)-Fc). Difícilmente se puede decir que la publicación internacional n.º WO2007/41317A1 describa un anticuerpo específico solo para RPTP- σ y la preparación para la misma.

El documento WO 2010256332 se refiere a un anticuerpo disponible comercialmente contra PTPRS humana denominado 1H6.

Dzionic *et al.* J. Exp. Med. volumen 194, número 12, 1823-1834 (2001) se refiere a BDCA-2, una lectina de tipo C específica para células dendríticas plasmacitoides de tipo II, que media en la captura de antígeno y es un inhibidor potente de la inducción de interferón α/β .

El documento WO 2009/003274 se refiere a la enfermedad inflamatoria intestinal y al gen de PTPRS.

El documento WO 2011/022462 se refiere a la regeneración neural y la proteína PTP σ transmembrana.

Pulido *et al.* PNAS volumen 92, págs. 11686-11690 (1995) se refiere a la subfamilia LAR/PTP δ /PTP σ de proteína-tirosina-fosfatasas transmembrana.

Lou *et al.* Journal of Immunological Methods 253, 233-242 (2001) se refiere a anticuerpos y cómo la estrategia de selección influye en el resultado de la selección de bibliotecas de diversidad molecular.

Lista de citas

Bibliografía de patentes

PTL 1: WO2004/13325A1

PTL 2: W095/9656A1

PTL 3: WO2007/41317A1

Bibliografía no de patentes

NPL 1: Shiozawa *et al.*, Arthr. & Rheum. 35, 412, 1992

NPL2: Hopkins *et al.*, Clin. Exp. Immunol. 73, 88, 1988

NPL 3: Wada *et al.*, Am. J. Gastroenterol. 90, 136, 1995

NPL 4: Perez *et al.*, Am. J. Hematol. 49, 365, 1995

NPL 5: Wilson LE *et al.*, Semin Arthritis. Rheum. 32, 163-173, 2002

NPL 6: Blanco *et al.*, Science, 16: 294,1540-1543, 2001

NPL 7: Nestle LO *et al.*, J.Exp.Med. 202, 135-143, 2005

NPL 8: Guler *et al.*, Arthritis Rheum., 44. S307, 2001

NPL 9: Stewart, TA. Cytokine Growth Factor Rev. 14; 139-154, 2003

NPL 10: Dzionek, A. *et al.* J.Immunol. 165: 6037-6046, 2000

NPL 11: J. Exp. Med.194: 1823-1834, 2001

NPL 12: Blood 1 de junio de 2004; 103/11: 4201-4206. Epub diciembre de 2003

NPL 13: J. Immunol. 2003, 171: 6466-6477

5 NPL 14: Blood, 1 de abril de 2005, vol. 105, n.º 7, págs. 2787-2792

NPL 15: <http://niwww3.nibb.ac.jp/RPTP.pdf>

NPL 16: Nat Rev Mol Cell Biol., vol. 7, 833-846, 2006

NPL 17: http://www.noastec.jp/kinouindex/data2005/pdf/01/01_20.pdf

Compendio de la invención

10 Problema técnico

El objeto de la presente invención es proporcionar un anticuerpo que se una con proteína tirosina fosfatasa σ de tipo receptor humana (PTPRS humana, hRPTP- σ) y detectar, identificar o aislar pCD. Asimismo, el objeto de la presente invención es modular la actividad de pCD.

15 Los presentes inventores confirmaron a través de los estudios relacionados con pCD humana que la expresión de PTPRS en pCD se mejora específicamente. Por lo tanto, los presentes inventores intentaron preparar un anticuerpo de PTPRS y aclarar la acción del mismo.

20 Para obtener un anticuerpo que reconoce una cantidad mínima de una proteína procedente de un cuerpo vivo, una proteína preparada por una tecnología de recombinación génica se utiliza en general como inmunógeno. Los presentes inventores han intentado expresar PTPRS humana basándose en la secuencia de bases de ADNc de PTPRS humana, que ya se ha aclarado, y la información sobre la secuencia de aminoácidos codificada por la misma (número de referencia de GenBank NM_002856.3).

25 Para obtener un anticuerpo de una proteína, con frecuencia se intenta utilizar una secuencia parcial de aminoácidos de una proteína natural como inmunógeno. Sin embargo, para que un anticuerpo reconozca una molécula en una superficie celular, debería seleccionarse una región que constituya una parte reconocida por un anticuerpo como epítipo en una superficie celular. Por lo tanto, se consideró que la obtención de un anticuerpo que es específico para PTPRS humana usando una secuencia de aminoácidos de fragmento como inmunógeno está distante.

Solución del problema

30 En dicha situación, los presentes inventores han aclarado que un anticuerpo que se une con pCD puede obtenerse utilizando un inmunógeno especial. Asimismo, también han confirmado que el anticuerpo obtenido de este modo reconoce específicamente pCD humana y tiene una acción para modular la actividad de la misma y completaron la presente invención.

Por lo tanto, la presente invención se refiere al siguiente anticuerpo anti-PTPRS humana, el método para la producción del mismo y las aplicaciones del mismo.

La presente invención es la siguiente.

35 (1) Un anticuerpo monoclonal o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo que se une, según lo confirmado por citometría de flujo, con un dominio extracelular de la proteína tirosina fosfatasa σ de tipo receptor humano (PTPRS humana) en una célula dendrítica plasmacitoide humana, que es un anticuerpo recombinante o fragmento de anticuerpo que incluye una región de unión a antígeno.

40 (2) Un anticuerpo monoclonal o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo según el (1) mencionado anteriormente, que suprime la producción de interferón (IFN) por la célula y/o la supervivencia de la célula, y que es un recombinante anticuerpo o fragmento de anticuerpo que incluye una región de unión a antígeno.

(3) El anticuerpo o el fragmento según el (1) o (2) mencionado anteriormente que es un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado, un Fv de cadena sencilla, un diacuerpo, un anticuerpo lineal o un anticuerpo multiespecífico formado a partir de fragmentos de anticuerpos.

45 (4) El anticuerpo o el fragmento según el (1) o (2) mencionado anteriormente, que es un anticuerpo humanizado.

(5) El fragmento de anticuerpo según el (1) o (2) mencionado anteriormente, que es un Fab o F(ab')₂.

(6) El anticuerpo o el fragmento según el (3) o (4) mencionado anteriormente, que es un anticuerpo quimérico o un

anticuerpo humanizado que comprende una región constante procedente de IgG o IgM.

5 (7) El anticuerpo o el fragmento según uno cualquiera de los (1) a (6) mencionados anteriormente, que comprende una región de unión a antígeno de un anticuerpo monoclonal producido por el hibridoma 9H5-4 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11356, hibridoma 10F7-38 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11357, hibridoma 13G5-52 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11358, hibridoma 13G5-57 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11359, hibridoma 14A8-85 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11360, hibridoma 22H8-84 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11361, hibridoma 49F2-30 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11362 o hibridoma 55E7-79 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11363.

10 (8) Un polinucleótido que codifica el anticuerpo quimérico del (3) o (6) mencionado anteriormente o el anticuerpo humanizado del (4) o (6) mencionado anteriormente.

15 (9) Un vector de expresión que comprende ADNc que codifica una región de unión a antígeno del anticuerpo del hibridoma 9H5-4 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11356, hibridoma 10F7-38 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11357, hibridoma 13G5-52 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11358, hibridoma 13G5-57 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11359, hibridoma 14A8-85 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11360, hibridoma 22H8-84 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11361, hibridoma 49F2-30 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11362 o hibridoma 55E7-79 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11363.

(10) Un método para la producción del anticuerpo o el fragmento según uno cualquiera de los (1) a (7) mencionados anteriormente.

20 (11) Un método según el (10) mencionado anteriormente, que:

- (a) comprende recombinación génica;
- (b) comprende un método de ingeniería genética que usa un polinucleótido del (8) mencionado anteriormente; o
- (c) comprende expresar el vector del (9) mencionado anteriormente en una célula hospedadora.

25 (12) Un método para la detección de una célula dendrítica plasmacitoide humana, que comprende poner en contacto el anticuerpo o el fragmento según uno cualquiera de los (1) a (7) mencionados anteriormente con una célula objeto y detectar el anticuerpo o el fragmento que se ha unido a la célula.

(13) Uso del anticuerpo según uno cualquiera de los (1) a (7) mencionados anteriormente en el diagnóstico *in vitro* de enfermedades en las que están implicadas células dendríticas plasmacitoides humanas.

30 (14) El anticuerpo o el fragmento según uno cualquiera de los (2) a (7) mencionados anteriormente para su uso en el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia,

en donde el anticuerpo suprime la producción de IFN por una célula dendrítica plasmacitoide humana y/o la supervivencia de la célula.

35 (15) El anticuerpo o el fragmento según uno cualquiera de los (2) a (7) mencionados anteriormente para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria en la que se potencia la expresión de IFN α , en donde el anticuerpo suprime la producción de IFN por una célula dendrítica plasmacitoide humana y/o la supervivencia de la célula.

Efectos ventajosos de la invención

40 La presente invención proporciona un anticuerpo que reconoce específicamente PTPRS humana y un método para la producción del anticuerpo anti-PTPRS humana. La PTPRS humana es una proteína de membrana que pertenece a la familia RPTP. Los presentes inventores aclararon que un anticuerpo que reconoce específicamente PTPRS humana puede obtenerse fácilmente. El anticuerpo anti-PTPRS humana que puede obtenerse mediante la presente invención es un anticuerpo que tiene alta especificidad, que distingue pCD humana de células que expresan otras familias de RPTP.

45 El anticuerpo anti-PTPRS humana proporcionado por la presente invención se une con un dominio extracelular de PTPRS humana en una pCD humana. Asimismo, el anticuerpo de la presente invención reconoce específicamente pCD humana. Por lo tanto, es útil para la detección y el aislamiento de pCD. pCD es una célula que produce la parte principal de IFN de tipo 1. Por lo tanto, la detección y el aislamiento de las mismas son importantes en los diagnósticos y estudios de enfermedades en las que pCD está implicada, tales como enfermedades autoinmunitarias.

50 Asimismo, el anticuerpo anti-PTPRS humana provisto por la presente invención tiene una acción para modular la actividad de pCD humana en una realización preferible. Por lo tanto, el anticuerpo anti-PTPRS humana de la presente invención se puede utilizar para suprimir la actividad de pCD. Por lo tanto, si se utiliza la supresión de la actividad de pCD que utiliza el anticuerpo de la presente invención, se puede esperar un efecto terapéutico incluso en un paciente con una enfermedad autoinmunitaria en la que la expresión de IFN α ha mejorado.

pCD produce una gran cantidad de IFN con pocas células. Para la neutralización de IFN, es necesario un anticuerpo correspondiente al número molecular de IFN. Sin embargo, en la presente invención, la actividad de la célula producida se suprime de manera directa. Como resultado, se puede esperar un efecto más fuerte de la supresión de IFN con una menor cantidad de anticuerpo en comparación con la neutralización por un anticuerpo anti-IFN. Asimismo, en el caso de que se produzca IFN de forma persistente, se espera que la neutralización de IFN por un anticuerpo se suprima solo de manera transitoria, mientras que la actividad de pCD se suprime y, por tanto, se puede esperar un efecto de supresión de la producción de IFN a largo plazo en la presente invención.

Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 es la secuencia de aminoácidos de PTPRS (SEQ ID NO: 1). PTPRS es una proteína de membrana transmembrana individual que tiene un dominio de tipo inmunoglobulina (dominio de tipo Ig) y un dominio de tipo fibronectina tipo III en la región extracelular. Asimismo, tiene dos regiones de proteína tirosina fosfatasa (dominios PTP) en la región intracelular;

La FIG. 2 es un gráfico que muestra los niveles de expresión relativos de PTPRS en diversas células inmunitarias. Se ha mostrado que PTPRS se expresa de una manera específica de pCD;

La FIG. 3 es un gráfico que muestra la comparación de la expresión del gen de PTPRS entre tejidos. El ARNm de PTPRS muestra expresión relativamente alta en el bazo y el ovario y también se expresa ampliamente en otros tejidos;

La FIG. 4 muestra la selección de la célula que expresa PTPRS humana (hPTPRS) mediante clasificación FACS;

La FIG. 5 muestra la exploración por FACS de hibridomas usando células hPTPRS/D2SC/1 inmunizadas. Se obtuvieron trece hibridomas que producen un anticuerpo anti-hPTPRS;

La FIG. 6 muestra la exploración por FACS usando la célula CAL-1;

La FIG. 7 muestra la exploración de FACS usando pCD de sangre periférica humana;

La FIG. 8 es un gráfico que muestra la homología de hPTPRS con otras PTPR. PTPRS pertenece a la familia PTPR, de las que las secuencias de aminoácidos de varias moléculas de la familia tienen alta homología contra la secuencia de aminoácidos de PTPRS;

La FIG. 9 es el resultado de ensayo que muestra si los diez tipos de sobrenadantes de cultivo celular de hibridoma (2G6, 4B2, 2G2, 9H5, 10F7, 22H8, 49F2, 14A8, 55E7, 13G5) que reconocen PTPRS y producen un anticuerpo que se une específicamente con pCD humana se unen o no específicamente solo con PTPRS (hPTPRE no se expresó en la superficie celular). Como resultado de ello, 2G6 mostró reactividad cruzada con PTPRF (FIG. 9, D) y 4B2 mostró reactividad cruzada con PTPRD (FIG. 9, C). Otros 9 tipos de anticuerpos mostraron unión específica a PTPRS (FIG. 9, A a D);

La FIG. 10 es el resultado de ensayo de la reactividad cruzada del anticuerpo anti-PTPRS con un mono. Todos los sobrenadantes de cultivo celular de hibridoma se unieron específicamente con el grupo de células pCD (linaje-CD123+ HFA-DR+) de un mono cinomolgo;

La FIG. 11 muestra la clasificación de individualización de los hibridomas. Se realizó clasificación de células individuales usando FACS Aria (BD) y células D2SC/1 y células hPTPRS/D2SC/1 (A y B), células CAL-1 (C) y pCD humanas (D) se tiñeron usando los sobrenadantes de cultivo celular de los hibridomas, y se seleccionaron hibridomas individuales;

La FIG. 12 muestra las concentraciones de la endotoxina en los anticuerpos purificados obtenidos de los sobrenadantes de cultivo de los hibridomas. Todas las concentraciones fueron el valor convencional de 0,3 Eu/mg de Ab o menos;

La FIG. 13 es el resultado de ensayo de las capacidades de los anticuerpos purificados para unirse con PTPRS humana en la superficie celular. Se pudo confirmar que todos los anticuerpos mantuvieron su capacidad de unión;

La FIG. 14 muestra la unión específica de los anticuerpos purificados con los grupos de células pCD (BDCA2+) de sangre periférica humana;

La FIG. 15 es el resultado de probar si los anticuerpos anti-PTPRS humanas también se unen o no con PTPRS de ratón. 49F2-30, 13G5-52, 13G5-57 y 22H8-84 se unían con mPTPRS/CHO;

La FIG. 16 muestra las actividades citotóxicas dependientes del complemento de los anticuerpos anti-PTPRS contra una célula que expresa hPTPRS. Se midieron las actividades citotóxicas dependientes del complemento de los anticuerpos anti-PTPRS contra PTPRS/CHO humana (FIG. 16A) y PTPRS/CHO de ratón (FIG. 16B). Como resultado, 13G5-52 y 13G5-57 mostraron aproximadamente 20 % de actividad de CDC contra la diana de PTPRS/CHO humana (A), mientras que 13G5-52 y 13G5-57 mostraron aproximadamente 100 % de actividad de CDC contra la diana de PTPRS/CHO de ratón (B);

La FIG. 17 muestra que ch49F2-30 (FIG. 17A), ch9H5-4, ch13G5-57 y ch22H8-84 (FIG. 17B) de un anticuerpo quimérico anti-hPTPRS dañan la célula hPTPRS/CHO diana de una manera dependiente del número de células efectoras; y

5 La FIG. 18 muestra que la producción de IFN α es inhibida completamente por el tratamiento del anticuerpo quimérico anti-PTPRS con ch49F2-30, ch9H5-4, ch13G5-57 y ch22H8-84 (FIG. 18 A) y se aclaró que la población de pCD disminuyó más que en el tratamiento con Synagis del anticuerpo de control (FIG. 18B y FIG. 18C).

Descripción de las realizaciones

10 La PTPRS humana es una molécula cuya expresión específica se observa en una célula dendrítica de tipo célula plasmática pCD. Sin embargo, todavía no se ha establecido ningún método para la producción de un anticuerpo que reconozca PTPRS humana.

15 Se conocen cuatro isoformas de PTPRS humana, que incluyen la isoforma 1 que consiste en 1.948 restos de aminoácidos, la isoforma 2 que consiste en 1.910 restos de aminoácidos, la isoforma 3 que consiste en 1.501 restos de aminoácidos y la isoforma 4 que consiste en 1.505 restos de aminoácidos. En las estructuras de las mismas, se observan tres dominios de tipo inmunoglobulina (primer dominio Ig, segundo dominio Ig y tercer dominio Ig), un dominio tipo fibronectina tipo III, un dominio transmembrana (dominio transmembrana, región TM) como estructuras extracelulares, y dos dominios de fosfatasa (dominios D1 y D2) como estructuras intracelulares. Solo el dominio D1 que está cerca de la membrana celular tiene actividad proteína tirosina fosfatasa (PTP). En la FIG. 1, los péptidos señal y los dominios típicos están marcados en la secuencia de aminoácidos.

20 La isoforma 3 de PTPRS humana es una proteína que penetra en la membrana que incluye de 831 a 851 de la SEQ ID NO: 1 (FIG. 1) como un dominio transmembrana. De los 1.501 restos de aminoácidos que incluyen el extremo N, 29 restos de aminoácidos (de 1 a 29 en la SEQ ID NO: 1) constituyen una secuencia señal y de 30 a 830 constituyen un dominio extracelular. Por otro lado, el lado C-terminal es un dominio intracelular. Se considera que los ligandos en el ambiente extracelular controlan la actividad en PTPRS.

25 Los presentes inventores han confirmado mediante un análisis de expresión génica que la PTPRS humana se expresa específicamente en pCD humana. Consideraron que, si se puede obtener un anticuerpo que pueda distinguir PTPRS humana de otras moléculas, sería útil para los estudios de pCD. Sin embargo, hay muchas moléculas que tienen estructuras similares en la familia PTP, incluyendo PTPRS humana. Moléculas tales como PTPRS que es RPTP- σ y PTPRA (RPTP- α), PTPRD (RPTP- δ), PTPRE (RPTP- ϵ), PTPRF (RPTP- ζ) incluye específicamente una secuencia de aminoácidos que tiene alta homología (FIG. 8). Por lo tanto, consideraron que sería difícil obtener un anticuerpo que pueda diferenciar estas moléculas entre sí usando un péptido de dominio usando la secuencia parcial de una secuencia de aminoácidos que constituye un dominio extracelular como inmunógeno. Por lo tanto, los presentes inventores intentaron obtener un anticuerpo contra PTPRS humana usando una célula que expresa PTPRS humana como inmunógeno.

35 Los presentes inventores han realizado estudios exhaustivos para obtener un anticuerpo que reconozca PTPRS humana y aclararon que el anticuerpo diana puede obtenerse usando una célula transformadora específica como inmunógeno, y completaron la presente invención. Concretamente, la presente invención se refiere a un anticuerpo monoclonal que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo.

40 En la presente invención, la PTPRS humana se puede definir como una molécula natural que se expresa en pCD humana o una molécula que es inmunológicamente equivalente a la PTPRS humana que se expresa en pCD humana. En la presente invención, se puede confirmar que el anticuerpo se une a PTPRS humana, por ejemplo, de la siguiente manera.

- Confirmación basada en la reactividad con la célula humana:

45 Según el hallazgo obtenido por los presentes inventores, se considera que la PTPRS humana se puede utilizar como marcador para pCD ya que se observa expresión específica de pCD humana.

50 En función de dicho perfil de expresión de PTPRS humana, en primer lugar, la actividad de pCD para unirse con al menos una parte del subconjunto es una de las características importantes del anticuerpo que se une con PTPRS humana en la presente invención. Se puede confirmar que una determinada célula es pCD mediante un marcador de superficie celular que es inherente a cada grupo celular. Por ejemplo, la unión a la célula objetivo se confirma mediante doble tinción con un anticuerpo que se une con un marcador de superficie celular y un anticuerpo cuya actividad de unión debe confirmarse. Concretamente, pCD en la presente invención incluye, por ejemplo, una célula que expresa BDCA2.

- Confirmación basada en la reactividad con célula transformadora que expresa el gen de PTPRS humana:

55 Los presentes inventores han confirmado que, cuando un gen de PTPRS humana se expresa en una condición específica, se reconstituyen las características inmunológicas de PTPRS humana expresada en pCD humana. Por lo tanto, la reactividad con PTPRS humana puede confirmarse en función de la reactividad de un anticuerpo contra una

célula en la que se ha introducido artificialmente un gen que codifica PTPRS humana. Concretamente, la presente invención se refiere a un anticuerpo monoclonal que se une con una molécula que incluye una secuencia de aminoácidos que constituye un dominio extracelular de PTPRS humana como un dominio extracelular o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo. Al mismo tiempo, el dominio extracelular está constituido por la secuencia de aminoácidos correspondiente a de 30 a 830 en la SEQ ID NO: 1 (FIG. 1) del extremo N de la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 1.

Por ejemplo, en una célula que se ha transformado con un vector de expresión que incluye un ADN que codifica PTPRS humana, se mantienen las características inmunológicas de PTPRS que se expresa en pCD humana. Por lo tanto, una célula transformadora que expresa PTPRS humana es preferible como célula para confirmar la propiedad de unión del anticuerpo contra un dominio extracelular de PTPRS humana en la presente invención. Cuando la reactividad del anticuerpo es confirmada por una célula de transformación en la presente invención, es deseable utilizar una célula que no se haya transformado como control.

A continuación, se observa o no el anticuerpo que se une con PTPRS humana en la presente invención puede ser un anticuerpo cuya reactividad cruzada con un grupo celular que se sabe que expresa una familia PTP distinta de PTPRS humana. El anticuerpo cuya reactividad cruzada no se observa es preferible como el anticuerpo que se une con PTPRS humana en la presente invención. Específicamente, un anticuerpo cuya unión con un grupo celular que se sabe que expresa una familia PTP distinta de PTPRS humana en la misma condición que la condición en la que se ha confirmado la unión con pCD es preferible como el anticuerpo que se une con PTPRS humana en la presente invención.

Concretamente, un anticuerpo monoclonal que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana en la presente invención incluye preferiblemente un anticuerpo monoclonal que tiene las siguientes características inmunológicas.

a) se une con pCD humana,

b) en la condición en que se une con pCD humana, su unión con un tipo o múltiples tipos seleccionados del grupo que consiste en un monocito, un macrófago, un linfocito B y una célula CD34 positiva, y células dendríticas procedentes de estas células, no se puede confirmar.

Específicamente, un anticuerpo cuya unión con un tipo o múltiples tipos seleccionados del grupo que consiste en un monocito, un macrófago, un linfocito B y una célula CD34 positiva, y células dendríticas procedentes de estas células no puede confirmarse en la condición en que el anticuerpo se une con pCD humana es preferible como el anticuerpo monoclonal de la presente invención.

Como alternativa, el anticuerpo monoclonal que se une con el dominio extracelular de PTPRS humana en la presente invención incluye preferiblemente un anticuerpo monoclonal que tiene las siguientes características inmunológicas.

c) se une con una célula transformadora que se ha transformado con un vector de expresión que conserva de manera expresable un ADN que codifica PTPRS humana,

d) en la condición de unión con la célula transformada en c), no se puede confirmar la unión con una célula hospedadora antes de la transformación en c).

En la presente invención, no se puede confirmar que el anticuerpo monoclonal anti-PTPRS humana no reaccione de forma cruzada con otras moléculas de la familia PTP usando una célula en la que cada familia PTP se ha expresado de manera forzosa. Concretamente, un ADNc que codifica una secuencia de aminoácidos de cada familia PTP se expresa de manera forzosa introduciéndolo en una célula hospedadora adecuada. Un anticuerpo monoclonal anti-PTPRS humana cuya reactividad cruzada debe confirmarse se pone en contacto con la célula transformadora obtenida. Después, si no se observa la unión con una célula que expresa otra molécula de la familia PTP distinta de PTPRS humana, se puede confirmar que el anticuerpo puede distinguir inmunológicamente la PTPRS humana de otra molécula de la familia PTP. Por ejemplo, en los ejemplos mencionados a continuación, se confirmó que la mayoría de los anticuerpos monoclonales anti-PTPRS humana obtenidos por la presente invención no reaccionaron de manera cruzada con PTPRA, PTPRD y PTPRF que específicamente tenían alta homología con PTPRS. Por lo tanto, un anticuerpo monoclonal que se une a PTPRS humana y cuya unión con PTPRA, PTPRD y PTPRF en la misma condición no se detecta es un anticuerpo monoclonal preferible en la presente invención. Si se utiliza un anticuerpo que puede distinguir inmunológicamente estas moléculas de la familia PTP de PTPRS, se puede detectar específicamente el cambio en la expresión de PTPRS. Además, se demostró que, entre las moléculas que tienen alta homología con PTPRS, la expresión de PTPRE puede confirmarse en una célula, pero PTPRE no se expresa fuera de la célula. Por lo tanto, no se une con PTPRE como anticuerpo.

La unión entre un anticuerpo monoclonal cuya actividad de unión debe confirmarse y diversas células pueden confirmarse mediante, por ejemplo, el principio de citometría de flujo. Para confirmar la reactividad del anticuerpo por el principio de citometría de flujo, es ventajoso marcar el anticuerpo de antemano con una molécula o grupo atómico que genere una señal detectable. En general, se utiliza un marcador de fluorescencia o un marcador de emisión de luz. Para analizar la unión entre un anticuerpo marcado con fluorescencia y una célula por el principio de citometría de flujo, se puede utilizar un clasificador celular activado por fluorescencia (FACS). Al utilizar el FACS, la unión entre los múltiples anticuerpos y las células puede confirmarse eficazmente.

Específicamente, por ejemplo, un anticuerpo A que se ha aclarado de antemano para poder identificar pCD y un anticuerpo B cuya propiedad para unirse con pCD debe analizarse reaccionan simultáneamente con un grupo de células que incluye pCD. El anticuerpo A y el anticuerpo B están marcados con señales de fluorescencia que pueden distinguirse entre sí de antemano. Si las dos señales se detectan en el mismo grupo celular, se puede confirmar que esos anticuerpos se unen con el mismo grupo celular. Concretamente, se puede descubrir que el anticuerpo A y el anticuerpo B tienen la misma propiedad de unión. Si se unen con diferentes grupos celulares, es evidente que sus propiedades de unión son diferentes.

Los ejemplos del anticuerpo monoclonal preferible en la presente invención pueden incluir un anticuerpo monoclonal producido por los hibridomas 9H5-4, 10F7-38, 13G5-52, 13G5-57, 14A8-85, 22H8-84, 49F2-30 o 55E7-79.

Los hibridomas 9H5-4, 10F7-38, 13G5-52, 13G5-57, 14A8-85, 22H8-84, 49F2-30 y 55E7-79 se depositaron como números de referencia FERM BP-11356, FERM BP-11357, FERM BP-11358, FERM BP-11359, FERM BP-11360, FERM BP-11361, FERM BP-11362 y FERM BP-11363 respectivamente, con el Depositario Internacional de Organismos de Patentes (IPOD), Instituto Nacional de Tecnología y Evaluación el 1 de abril de 2011. A continuación, en la presente memoria, se describirá el contenido para especificar el depósito.

(a) Nombre de la organización depositaria: Depositario Internacional de Organismos de Patentes (IPOD), Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología Industrial Avanzada Dirección: Tsukuba Central 6. 1-1-1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8566, Japón

(b) Fecha de deposición: 1 de abril de 2011

(c) N.º de referencia FERM BP-11356 (hibridoma 9H5-4)

(c) N.º de referencia FERM: BP-11357 (hibridoma 10F7-38)

(c) N.º de referencia FERM BP-11358 (hibridoma 13G5-52)

(c) N.º de referencia FERM BP-11359 (hibridoma 13G5-57)

(c) N.º de referencia FERM BP-11360 (hibridoma 14A8-85)

(c) N.º de referencia FERM BP-11361 (hibridoma 22H8-84)

(c) N.º de referencia FERM BP-11362 (hibridoma 49F2-30)

(c) N.º de referencia FERM BP-11363 (hibridoma 55E7-79)

El anticuerpo monoclonal de la presente invención puede ser un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo. Por ejemplo, un fragmento de anticuerpo que incluye un sitio de unión a antígeno que se genera mediante digestión enzimática de IgG también se puede utilizar como anticuerpo en la presente invención. Específicamente, se puede obtener un fragmento de anticuerpo tal como Fab o F(ab')₂ mediante digestión con papaína o pepsina. Es bien sabido que estos fragmentos de anticuerpos pueden utilizarse como moléculas de anticuerpos que tienen afinidad de unión por un antígeno. Como alternativa, mientras se mantenga la actividad de unión a antígeno necesaria, también se puede usar un anticuerpo construido mediante un gen recombinante. Los ejemplos del anticuerpo construido mediante recombinación génica pueden incluir anticuerpos quiméricos, anticuerpos trasplantados con CDR, Fv de cadena sencilla, diacuerpos, anticuerpos lineales y anticuerpos multiespecíficos que se forman a partir de fragmentos de anticuerpos. Se conocen métodos para obtener estos anticuerpos basados en anticuerpos monoclonales o células productoras de anticuerpos que producen los anticuerpos monoclonales.

El anticuerpo monoclonal de la presente invención puede obtenerse usando una célula transformadora específica como inmunógeno. Concretamente, la presente descripción se refiere a un método para la producción de una célula que produce un anticuerpo monoclonal que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana, que incluye:

(1) administrar una célula que expresa una proteína exógena que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana a un animal para inmunizar el animal con la célula y

(2) seleccionar una célula productora de anticuerpos que produce el anticuerpo monoclonal que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana del animal inmunizado.

Al cultivar la célula productora de anticuerpos obtenida de este modo o la célula productora de anticuerpos que se ha inmortalizado, el anticuerpo monoclonal objetivo puede recogerse del cultivo. Se conocen diversos métodos para el método de inmortalización de la célula productora de anticuerpos.

La célula transformadora que se usa como inmunógeno en la presente descripción puede obtenerse mediante, por ejemplo, preparación de la siguiente célula que conserva de manera expresable un polinucleótido exógeno (a) que codifica una secuencia de aminoácidos que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana.

En la presente descripción, el polinucleótido exógeno se refiere a que el polinucleótido se ha introducido artificialmente en una célula hospedadora. En el caso de que se use una célula humana como célula, se introduce un gen humano en una célula humana. También en dicha combinación, el polinucleótido introducido artificialmente se denomina polinucleótido exógeno. Por lo tanto, la expresión ectópica de PTPRS humana está abarcada en la expresión del polinucleótido exógeno.

En la presente invención, el dominio extracelular de PTPRS humana se refiere a la secuencia de aminoácidos de las posiciones 30 a 830 que corresponden al dominio extracelular de la secuencia de aminoácidos descrita en la SEQ ID NO: 1. Por ejemplo, una secuencia de aminoácidos que incluye las regiones respectivas en el orden del lado del extremo N mencionado A continuación, es preferible como la secuencia de aminoácidos que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana en la presente invención.

[secuencia señal + dominio extracelular + dominio transmembrana + región intracelular]

Como alternativa, una secuencia de aminoácidos que carece parcialmente de regiones intracelulares de la siguiente manera también está abarcada en la secuencia de aminoácidos que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana en la presente invención.

[secuencia señal + dominio extracelular + dominio transmembrana + parte de la región intracelular] Asimismo, una estructura que carece de una región intracelular de la siguiente manera también está abarcada en la secuencia de aminoácidos que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana en la presente invención.

[secuencia señal + dominio extracelular + dominio transmembrana]

En las estructuras mencionadas anteriormente, las regiones distintas del dominio extracelular pueden tener una secuencia seleccionada de la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 1, o pueden incluir otra secuencia de aminoácidos homóloga en combinación. Por ejemplo, una secuencia de aminoácidos que constituye una secuencia señal, un dominio transmembrana y una región intracelular pueden ser una secuencia de aminoácidos de moléculas de la familia PTP distintas de PTPRS humana. Como alternativa, se puede combinar una secuencia de aminoácidos de una familia PTP de una especie distinta del ser humano. Asimismo, las secuencias de aminoácidos que constituyen las regiones distintas del dominio extracelular pueden incluir mutación en la medida en que se puedan mantener las funciones de las regiones respectivas. Asimismo, otra región puede interponerse entre las regiones respectivas. Por ejemplo, se puede insertar una etiqueta de epítopo tal como FLAG entre la secuencia señal y el dominio extracelular. Específicamente, la secuencia señal es una región que se traduce en una proteína, se procesa en la etapa de transferencia a la superficie de una membrana celular y se elimina. Por lo tanto, cualquier secuencia de aminoácidos que induzca el paso de la membrana celular de la proteína traducida puede utilizarse como secuencia señal. De manera más específica, la secuencia de aminoácidos de PTPRS humana (SEQ ID NO: 1) es preferible como una secuencia de aminoácidos que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana.

Por lo tanto, para el polinucleótido que constituye el (a) mencionado anteriormente en la presente descripción, se puede utilizar cualquier secuencia de bases que codifique una secuencia de aminoácidos que constituya la estructura mencionada anteriormente [secuencia señal + dominio extracelular + dominio transmembrana + región intracelular]. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 está codificada por la secuencia de bases descrita en la SEQ ID NO: 2.

En la presente descripción, para obtener una célula transformadora para usar como inmunógeno, solo es necesario introducir un vector de expresión en el que el polinucleótido (a) mencionado anteriormente se conserve de manera expresable en una célula hospedadora adecuada.

La célula hospedadora en la presente descripción es preferiblemente una célula de mamífero. Específicamente, una célula procedente de un ser humano, un mono, un ratón o una rata se puede utilizar como célula hospedadora. Una célula HEK-293T es una línea celular de riñón procedente de embrión humano, que se puede utilizar como célula hospedadora en la presente descripción. Una célula HEK-293T está disponible como ATCC CRL-11268. También se pueden utilizar células procedentes del animal para inmunizar como células hospedadoras. Cuando una célula procedente de un animal para inmunizar se utiliza como inmunógeno, la respuesta inmunitaria contra la célula hospedadora es pequeña. Por lo tanto, se puede obtener eficazmente un anticuerpo contra un dominio extracelular de PTPRS humana que se expresa de manera exógena. Por lo tanto, por ejemplo, cuando se usa un ratón como animal para inmunizar, también se puede usar una célula procedente de ratón como célula hospedadora.

El polinucleótido mencionado anteriormente se puede transformar en una célula montando el polinucleótido en un vector que puede inducir la expresión en una célula hospedadora. Se puede utilizar un vector disponible en el mercado que puede inducir la expresión en una célula de mamífero. Se pueden utilizar vectores de expresión tales como vector pCMV-Script (R), vector pSG5 (fabricado por Stratagene) y pcDNA3.1 (fabricado por Invitrogen) en la presente invención.

La célula transformadora obtenida de este modo se administra a un animal para inmunizar al animal, junto con componentes adicionales tales como un adyuvante según sea necesario. Como el adyuvante, se puede utilizar adyuvante completo de Freund. En el caso de que se utilice un ratón como animal inmunizado, la célula transformadora

se puede administrar de 10^4 a 10^9 células, más específicamente de 10^4 a 10^6 células. En general, el inmunógeno se administra múltiples veces a intervalos hasta que aumenta un título de anticuerpos. Por ejemplo, en el caso de un proceso de inmunización de corta duración, la célula transformadora se puede administrar a intervalos de 2 a 4 días, específicamente 3 días, y la célula productora de anticuerpos se puede recoger después de 2 a 3 veces de administración. Como alternativa, la célula productora de anticuerpos se puede recoger después de 5 a 6 veces de administración a intervalos de aproximadamente una vez por semana.

En la presente descripción, la célula productora de anticuerpos recogida se clona para obtener un anticuerpo monoclonal. Es preferible que la clonación inmortalice la célula productora de anticuerpos. Por ejemplo, se puede utilizar un proceso de fusión celular, tal como un proceso de hibridoma, o transformación mediante el virus de Epstein-Barr (VEB) como el proceso para la inmortalización de la célula productora de anticuerpos.

En la célula productora de anticuerpos, una célula produce un tipo de anticuerpo. Por lo tanto, si se puede establecer un grupo celular procedente de una célula (es decir, clonación), se puede obtener un anticuerpo monoclonal. El proceso de hibridoma se refiere a un proceso en el que una célula productora de anticuerpos se fusiona con una cepa celular adecuada, se inmortaliza y se clona. La célula productora de anticuerpos inmortalizada puede clonarse mediante una técnica tal como un método de dilución limitante. Se conocen muchas cepas celulares que son útiles para el proceso de hibridoma. Estas cepas celulares tienen diversos marcadores genéticos que son excelentes en la eficacia de inmortalización de una célula basada en linfocitos y necesarios para la selección de una célula que ha tenido éxito en la fusión celular. Asimismo, en el caso en que se pretende obtener una célula productora de anticuerpos, también se puede usar una cepa celular que carece de capacidad productora de anticuerpos.

Por ejemplo, el mieloma de ratón P3 x 63Ag8.653 (ATCC CRL-1580) y P3 x 63Ag8U.1 (ATCC CRL-1597) se usan ampliamente como cepas celulares que son útiles en los procesos de fusión celular en ratones y ratas. En general, se prepara un hibridoma fusionando células homólogas, pero se puede obtener un anticuerpo monoclonal a partir de heterohibridomas heterólogos estrechamente relacionados.

Se conoce un protocolo específico de fusión celular. Concretamente, una célula productora de anticuerpos de un animal inmunizado se mezcla con un compañero de fusión adecuado para efectuar la fusión celular. Para la célula productora de anticuerpos, por ejemplo, una célula del bazo, se usan una célula linfocítica recogida de un ganglio linfático y un linfocito B de sangre periférica. Como compañero de fusión, se pueden utilizar diversas cepas celulares que se han mencionado anteriormente. Para la fusión celular, se utiliza un proceso de polietilenglicol o un proceso de fusión eléctrica.

A continuación, la célula que ha tenido éxito en la fusión celular se selecciona en función de un marcador de selección que posee la célula de fusión. Por ejemplo, en el caso en que se usa una cepa celular sensible a HAT para fusión celular, la célula que ha tenido éxito en la fusión celular se selecciona mediante la selección de la célula que crece en un medio HAT. Asimismo, se confirma que el anticuerpo producido por la célula seleccionada tiene la reactividad prevista.

Cada hibridoma se explora en función de la reactividad del anticuerpo. Concretamente, se selecciona un hibridoma que produce un anticuerpo que se une con PTPRS humana mediante el proceso mencionado anteriormente. Preferiblemente, el hibridoma seleccionado se subclona y, en el caso de que finalmente se confirme la producción del anticuerpo objetivo, se selecciona como un hibridoma que produce el anticuerpo monoclonal de la presente invención.

Específicamente, el hibridoma objetivo puede seleccionarse en función de la reactividad con una célula humana o la reactividad con una célula transformadora que expresa el gen de PTPRS humana. El anticuerpo que se une a la célula puede detectarse por el principio de un inmunoensayo. Por ejemplo, se puede utilizar ELISA que utiliza una célula como antígeno para la detección del anticuerpo objetivo. Específicamente, se pone en contacto un sobrenadante de cultivo de un hibridoma con un soporte en el que se fija pCD humana o una célula transformadora utilizada como inmunógeno. En el caso en que el sobrenadante de cultivo incluye el anticuerpo objetivo, el anticuerpo es capturado por la célula fijada en el soporte. Después, la fase sólida se separa del sobrenadante de cultivo y se lava según sea necesario, de modo que se puede detectar el anticuerpo capturado en la fase sólida. Un anticuerpo que reconoce el anticuerpo puede utilizarse para la detección del anticuerpo. Por ejemplo, un anticuerpo de ratón puede ser detectado por un anticuerpo anti-inmunoglobulina de ratón. Si un anticuerpo que reconoce el anticuerpo está marcado de antemano, su detección es fácil. Como marcador, por ejemplo, se puede utilizar una enzima, un pigmento fluorescente o un pigmento de emisión de luz.

Por otro lado, como soporte para fijación de la célula, se pueden utilizar partículas o una pared interna de una placa de microtitulación. La célula se puede fijar mediante adsorción física en la superficie de partículas o un recipiente hecho de plástico. Por ejemplo, se pueden utilizar perlas o un recipiente de reacción hecho de poliestireno como soporte para fijar la célula.

En la selección de un hibridoma, en algunos casos se espera la producción de un anticuerpo contra PTPRS no humana, pero la célula hospedadora de la célula transformadora usada para el inmunógeno. Por ejemplo, como se muestra en los ejemplos, cuando se usa una célula humana como inmunógeno y se utiliza un ratón como animal para inmunizar, la célula humana se reconoce como una sustancia extraña y se espera la producción de un anticuerpo que

se una a la misma. La presente invención tiene como objetivo obtener un anticuerpo que reconoce PTPRS humana. Por lo tanto, no es necesario obtener un anticuerpo que reconozca un antígeno de células humanas distinto de PTPRS humana. Para excluir un hibridoma que produzca dicho anticuerpo mediante exploración, un anticuerpo no pretendido puede ser absorbido de antemano antes de la confirmación de la reactividad del anticuerpo.

5 El anticuerpo no pretendido puede ser absorbido por un antígeno con el que se une un anticuerpo cuya presencia se espera. Específicamente, por ejemplo, los anticuerpos contra antígenos de células humanas distintos de PTPRS humanas pueden ser absorbidos por células en las que no se puede detectar la expresión de PTPRS humana. En la presente descripción, la célula hospedadora usada como inmunógeno es preferible como el antígeno para absorber el anticuerpo no pretendido.

10 Cuando sea necesario, se confirma el efecto real sobre la actividad de pCD del anticuerpo monoclonal cuya actividad de unión contra el antígeno se ha confirmado. El efecto en pCD se puede confirmar mediante, por ejemplo, el método como se menciona a continuación.

15 El anticuerpo monoclonal de la presente invención puede recogerse de un cultivo obtenido cultivando un hibridoma que produce el anticuerpo monoclonal. El hibridoma puede cultivarse *in vitro* o *in vivo*. El hibridoma puede cultivarse *in vitro* mediante el uso de un medio conocido tal como RPMI1640. En el sobrenadante de cultivo, se acumula una inmunoglobulina secretada por el hibridoma. Por lo tanto, el anticuerpo monoclonal de la presente invención puede obtenerse recogiendo el sobrenadante de cultivo y purificando según sea necesario. La purificación de la inmunoglobulina es más fácil en el caso en que no se añade suero al medio. Sin embargo, con fines de proliferación más rápida del hibridoma y aceleración de la producción del anticuerpo, se puede añadir al medio aproximadamente 20 10 % de suero bovino fetal.

25 El hibridoma también se puede cultivar *in vivo*. Específicamente, al inocular el hibridoma en la cavidad abdominal de un ratón desnudo, el hibridoma se puede cultivar en la cavidad abdominal. El anticuerpo monoclonal se acumula en líquido ascítico. Por lo tanto, se puede obtener un anticuerpo monoclonal deseado recogiendo el líquido ascítico y purificando según sea necesario. El anticuerpo monoclonal obtenido puede modificarse o procesarse de manera adecuada según el fin.

30 El anticuerpo monoclonal de la presente invención se puede expresar obteniendo ADNc que codifica una región de unión a antígeno del anticuerpo del hibridoma e insertando este en un vector de expresión adecuado. Se conoce una técnica para obtener un ADNc que codifica una región variable de un anticuerpo y que se expresa en una célula hospedadora adecuada. Asimismo, también se conoce una técnica para unir una región variable que incluye una región de unión a antígeno a una región constante para formar un anticuerpo quimérico.

35 Por ejemplo, como anticuerpo monoclonal preferible en la presente invención, se puede representar un anticuerpo monoclonal producido por el hibridoma 9H5-4 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11356, hibridoma 10F7-38 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11357, hibridoma 13G5-52 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11358, hibridoma 13G5-57 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11359, hibridoma 14A8-85 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11360, hibridoma 22H8-84 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11361, hibridoma 49F2-30 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11362 o hibridoma 55E7-79 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11363.

40 Como el anticuerpo quimérico que incluye una región variable o el anticuerpo humanizado al que se ha trasplantado la CDR que constituye una región variable, un anticuerpo que tiene una región constante procedente de IgG o IgM está abarcado en el anticuerpo preferible en la presente invención. Los presentes inventores han confirmado que un anticuerpo monoclonal contra PTPRS tiene una acción de CDC contra la célula que expresa PTPRS. Por lo tanto, el anticuerpo que tiene una región constante procedente de IgG o IgM tiene una acción citotóxica contra una célula que expresa PTPRS por la acción de CDC. Dicho anticuerpo es útil para suprimir el número celular de la célula que expresa PTPRS tal como pCD.

45 El anticuerpo quimérico que reconoce PTPRS humana o el anticuerpo humanizado se puede producir mediante ingeniería genética mediante el uso de un polinucleótido que codifica el anticuerpo.

50 Ya han pasado aproximadamente cuatro años desde que se aclaró la estructura de la PTPRS humana en el documento WO2007/041317 (JP2009-510102A); sin embargo, todavía no se ha obtenido un anticuerpo que pueda reconocer específicamente PTPRS humana. El inmunógeno de la presente invención proporcionó por primera vez un anticuerpo que reconoce PTPRS humana. Concretamente, la presente descripción proporciona un anticuerpo que reconoce PTPRS humana, que se puede obtener mediante los siguientes procesos:

- (1) administrar a un animal una proteína que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana para inmunizar el animal;
- (2) seleccionar una célula productora de anticuerpos que produce un anticuerpo que se une con PTPRS humana de la célula productora de anticuerpos del animal inmunizado; y
- (3) cultivar la célula productora de anticuerpos seleccionada en (2) y recoger del cultivo un anticuerpo que reconoce

PTPRS humana.

5 Se aclaró que la PTPRS humana se expresa específicamente en pCD humana. La expresión específica en pCD humana también fue confirmada en el análisis de expresión génica por SAGE por los presentes inventores. Sin embargo, en los informes anteriores, el nivel de expresión de PTPRS humana se analizó en función de ARNm en todos los casos. Ya que no se proporcionó un anticuerpo mediante el que se habilita la detección de PTPRS humana, el estado de expresión de una proteína no se analizó en el pasado. El anticuerpo que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana, que fue proporcionado por la presente invención, realizó el análisis de una proteína PTPRS humana.

10 Según la confirmación real de los presentes inventores, el anticuerpo monoclonal que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana basado en la presente invención detectó específicamente pCD humana. Concretamente, la presente invención se refiere a un método para la detección de una célula dendrítica plasmacitoide, que incluye poner en contacto el anticuerpo monoclonal o el fragmento de la invención con una célula objeto y detectar el anticuerpo monoclonal o el fragmento que se ha unido a la célula.

15 Mediante la detección de PTPRS humana basada en la presente invención, se puede confirmar si una célula determinada es pCD o no. Concretamente, la presente invención proporciona un método para la identificación de pCD usando PTPRS humana como índice. Como alternativa, la pCD humana se puede separar separando la célula en la que se ha detectado PTPRS humana según la presente invención. Concretamente, la presente descripción proporciona un método para la separación de pCD usando PTPRS humana como índice.

20 En la presente invención, un anticuerpo monoclonal que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo puede marcarse de antemano. Por ejemplo, el anticuerpo se puede detectar fácilmente marcando con un pigmento de emisión de luz o un pigmento fluorescente. De manera más específica, un anticuerpo marcado con pigmento fluorescente se pone en contacto con un agregado celular que posiblemente incluye pCD, por lo tanto, una célula a la que se ha unido el anticuerpo de la presente invención puede detectarse usando el pigmento fluorescente como índice. Asimismo, si la célula en la que se ha detectado el pigmento de fluorescencia está separada, se puede separar pCD. La serie de procesos puede llevarse a cabo fácilmente por el principio de FACS.

25 Como alternativa, el anticuerpo de la presente invención puede unirse a un soporte de fase sólida tal como partículas magnéticas de antemano. El anticuerpo unido al soporte de fase sólida reconoce la PTPRS humana y el soporte de fase sólida captura pCD. Como resultado, se puede detectar y separar pCD.

30 El anticuerpo necesario para la detección de pCD basada en la presente invención puede suministrarse como un agente para detectar pCD. Concretamente, la presente descripción proporciona un agente para detectar pCD que incluye un anticuerpo monoclonal que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo. Para el agente para detectar pCD, además del anticuerpo, se puede combinar un control positivo o un control negativo. Por ejemplo, la célula transformadora que expresa un dominio extracelular de PTPRS humana, que se utilizó como inmunógeno, o pCD recogida de un ser humano puede utilizarse como control positivo. En general, solo se puede obtener poca pCD humana de sangre periférica. Por lo tanto, la célula transformadora es específicamente preferible como control positivo en el agente. Por otro lado, cualquier célula que no exprese PTPRS humana puede utilizarse para el control negativo.

35 Concretamente, la presente descripción proporciona un equipo para detectar pCD humana, que incluye un anticuerpo monoclonal que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo.

40 Asimismo, los presentes inventores han analizado el efecto del anticuerpo que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana en pCD. Como resultado, han confirmado que el anticuerpo que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana suprime la actividad de pCD. Concretamente, la presente descripción se refiere a un método para suprimir la actividad de una célula productora de interferón, que incluye poner en contacto cualquiera de los siguientes componentes con pCD:

- (a) un anticuerpo monoclonal que se une con PTPRS humana para suprimir la actividad de pCD o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo, y
- (b) una inmunoglobulina a la que se ha trasplantado una región determinante de complementariedad del anticuerpo monoclonal de (a) o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno de la misma.

45 Como alternativa, la presente descripción se refiere a un método para suprimir la actividad de pCD en un cuerpo vivo, que incluye administrar cualquiera de los siguientes componentes al cuerpo vivo:

- (a) un anticuerpo monoclonal que se une con PTPRS humana para suprimir la actividad de pCD o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo,
- (b) una inmunoglobulina a la que se ha trasplantado una región determinante de complementariedad del anticuerpo

monoclonal de (a) o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno de la misma, y

(c) un polinucleótido que codifica el componente descrito en (a) o (b).

En la presente descripción, pCD se refiere a una célula que tiene la capacidad de producir IFN y expresa PTPRS humana en una superficie celular. En lo sucesivo en la presente memoria, a menos que se indique otra cosa, pCD abarca no solo una célula que es una célula precursora de una célula dendrítica, sino también una célula que tiene la capacidad de producir IFN y expresa PTPRS humana en una superficie celular. Se conoce un método para identificar dicha pCD. Por ejemplo, la pCD se puede distinguir de otras células sanguíneas usando varios marcadores de superficie celular como índices. Específicamente, el perfil del marcador de superficie celular de pCD humana es el siguiente (Shortman, K. y Liu, YJ, *Nature Reviews* 2: 151-161, 2002). También se ha informado en los últimos años de que la célula BDCA-2 positiva se sitúa como pCD (Dzionek, A. *et al.* *J. Immunol.* 165: 6037-6046, 2000).

[Perfil de antígeno de superficie celular de pCD humana]

Positiva para CD4, positiva para CD123, negativa para linaje (CD3, CD14, CD16, CD19, CD20, CD56), negativa para CD11c. Por lo tanto, una célula que tiene el perfil de expresión de estos marcadores conocidos y que también tiene la capacidad de producir IFN también se puede denominar pCD. Asimismo, incluso un grupo de células que tiene un perfil que es diferente del patrón de expresión del perfil de expresión de estos marcadores, una célula en un cuerpo vivo que tiene la capacidad de producir IFN, son células que están abarcadas en las pCD.

Asimismo, como características que se observan habitualmente en pCD humanas, se pueden mostrar las siguientes características.

[Características en la forma de la célula]

- se asemeja a una célula plasmática.
- es una célula redonda que tiene una superficie celular lisa.
- tiene un núcleo relativamente grande. [Características funcionales de la célula]
- produce una gran cantidad de IFN de tipo I en un periodo corto durante la infección vírica.
- se diferencia en una célula dendrítica después de la infección vírica.

En la presente descripción, la supresión de la actividad de pCD se refiere a la supresión de al menos una función poseída por las pCD. Como las funciones de pCD, Se puede mostrar la producción de IFN y la supervivencia celular. En otras palabras, se puede decir que la supervivencia celular es un número de células. Por lo tanto, la supresión de una o ambas de estas funciones se refiere a la supresión de la actividad de pCD. Se aclaró que el IFN de tipo I producido por pCD provoca diversas enfermedades. Por lo tanto, es útil suprimir el número de células de pCD y la producción de IFN como estrategias terapéuticas para esas enfermedades.

Por ejemplo, se señaló una relación entre los procesos patológicos de enfermedades autoinmunitarias y el IFN α . La mayoría de IFN α es producido por pCD. Por lo tanto, si se suprime la producción del mismo, pueden aliviarse los procesos patológicos provocados por IFN α . Al mismo tiempo, en la presente invención, la supresión de la producción de IFN por pCD se refiere a la supresión de la producción de al menos un tipo de IFN entre los IFN producidos por pCD. Los IFN de tipo I son IFN preferibles en la presente invención. Entre estos, IFN α es importante.

Concretamente, la presente descripción se refiere a un agente para suprimir la producción de IFN, que incluye un anticuerpo que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana como principio activo. Como alternativa, la presente descripción proporciona un método para suprimir la producción de IFN, que incluye administrar un anticuerpo que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana. Asimismo, la presente descripción se refiere al uso de un anticuerpo que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana en la producción de una composición farmacéutica para suprimir la producción de IFN.

pCD incluye una célula que produce una gran cantidad de IFN por una cantidad pequeña de células. Por ejemplo, una célula precursora de una célula dendrítica que ha sido estimulada, por ejemplo, por un virus produce la mayor parte del IFN producido por un cuerpo vivo. La supresión del número de células de pCD que produce una gran cantidad de IFN conduce en consecuencia a la supresión de la cantidad de producción de IFN. Por lo tanto, los procesos patológicos provocados por IFN α también pueden aliviarse suprimiendo el número de células de pCD.

En una realización preferible de la presente invención, se ha confirmado que un anticuerpo monoclonal anti-PTPRS humana se une a una célula que expresa PTPRS humana y transmite una acción citotóxica mediante una acción de CDC (citotoxicidad dependiente del complemento). La acción de CDC es uno de los mecanismos de acción importantes en los medicamentos de anticuerpos. El anticuerpo monoclonal anti-PTPRS humana de la presente invención también tiene una fuerte acción citotóxica contra células que expresan PTPRS humana tales como pCD por la acción de CDC del mismo. Concretamente, se puede esperar un efecto de supresión de la producción de IFN también por una acción citotóxica contra pCD además del mecanismo de supresión de la producción de IFN en una

realización preferible.

El anticuerpo que reconoce un dominio extracelular de PTPRS humana usado en la presente invención se puede obtener basándose en el método mencionado anteriormente. El anticuerpo en la presente invención puede ser de cualquier clase. Asimismo, la especie del organismo del que se obtiene el anticuerpo tampoco está limitada. Asimismo, un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del anticuerpo puede usarse como anticuerpo. Por ejemplo, un fragmento de anticuerpo que incluye un sitio de unión a antígeno que se genera mediante digestión enzimática de IgG también se puede usar como anticuerpo en la presente invención. Específicamente, se puede obtener un fragmento de anticuerpo tal como Fab o F(ab')₂ mediante digestión con papaína o pepsina. Es bien sabido que estos fragmentos de anticuerpos pueden utilizarse como moléculas de anticuerpos que tienen afinidad de unión por antígenos. Como alternativa, también se puede usar un anticuerpo construido mediante recombinación génica siempre que mantenga la actividad de unión a antígeno necesaria. Los ejemplos del anticuerpo construido mediante recombinación génica pueden incluir anticuerpos quiméricos, anticuerpos de trasplante de CDR, Fv de cadena sencilla, diacuerpos y anticuerpos lineales, y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos. Se conocen métodos para obtener estos anticuerpos basados en anticuerpos monoclonales.

En la presente invención, el anticuerpo puede modificarse según sea necesario. Según la presente invención, un anticuerpo que reconoce un dominio extracelular de PTPRS humana tiene una acción para suprimir la actividad de pCD. Concretamente, se consideró la posibilidad de que el propio anticuerpo tenga una acción citotóxica contra pCD. Se conoce la subclase del anticuerpo que muestra una fuerte acción efectora. Como alternativa, modificando el anticuerpo con una sustancia citotóxica (un agente citotóxico), el efecto de suprimir la actividad de pCD puede potenciarse adicionalmente. Los ejemplos de la sustancia citotóxica pueden incluir las siguientes sustancias.

Toxinas: endotoxina de *Pseudomonas* (PE), lisina de toxina diftérica

Elementos de radioisótopos: Tc99m, Sr89, I131, Y90

Agentes antineoplásicos: calicheamicina, mitomicina, paclitaxel

Las toxinas compuestas por una proteína pueden unirse, por ejemplo, con un anticuerpo o un fragmento del mismo mediante un agente bifuncional. Como alternativa, un gen que codifica toxinas puede unirse con un gen que codifica un anticuerpo para dar una proteína de fusión de los dos genes. También se conoce un método para unir un elemento radioisotópico con un anticuerpo. Por ejemplo, se conoce un método para marcar un anticuerpo con un elemento radioisotópico utilizando un agente quelante. Asimismo, un agente antineoplásico puede unirse con un anticuerpo utilizando una cadena de azúcar o un agente bifuncional.

En la presente invención, un anticuerpo cuya estructura se ha modificado artificialmente también se puede utilizar como principio activo. Por ejemplo, se conocen diversos métodos de modificación para aliviar la acción citotóxica y la estabilidad de un anticuerpo. Específicamente, se conoce una inmunoglobulina en la que se ha modificado una cadena de azúcar de una cadena pesada (Shinkawa, T. *et al.*, J. Biol. Chem 278: 3466-3473. 2003.). Al modificar la cadena de azúcar, se mejoró la actividad ADCC (citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos) de la inmunoglobulina.

Cuando el anticuerpo que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana se pone en contacto con pCD, se suprime la actividad de la misma. Por lo tanto, estos anticuerpos pueden utilizarse para un agente o método para suprimir la actividad de pCD. Concretamente, la presente descripción proporciona un agente para suprimir la actividad de pCD, que incluye al menos un tipo de componente seleccionado del grupo que consiste en los siguientes (a)-(b) como principio activo. Como alternativa, la presente descripción se refiere a un método para suprimir la actividad de pCD, que incluye administrar al menos un tipo de componente seleccionado del grupo que consiste en los siguientes (a)-(b). Asimismo, la presente descripción se refiere al uso del componente seleccionado del grupo que consiste en los siguientes (a)-(b) en la producción de un agente para suprimir la actividad de pCD.

(a) Un anticuerpo que se une con un dominio extracelular de PTPRS humana, o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo, y

(b) Una inmunoglobulina a la que se ha trasplantado una región determinante de complementariedad del anticuerpo monoclonal de (a) o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno de la misma.

En la presente invención, como el anticuerpo monoclonal que suprime la actividad de pCD, se puede utilizar un anticuerpo monoclonal que reconoce un dominio extracelular de PTPRS humana. En la presente invención, se pueden utilizar un tipo o múltiples tipos de anticuerpo monoclonal. Por ejemplo, se pueden incorporar y utilizar en la presente invención múltiples tipos de anticuerpos monoclonales que reconocen un dominio extracelular de PTPRS humana.

Se puede confirmar que un anticuerpo tiene la acción de suprimir la actividad productora de IFN de pCD de la siguiente manera. pCD produce una gran cantidad de IFN mediante la estimulación de un virus. Al proporcionar un anticuerpo antes o después de la estimulación con el virus contra pCD, o simultáneamente con la estimulación con el virus, y usar pCD para el que no se proporciona el anticuerpo como control, se comparan las capacidades de producir IFN. Las capacidades de producir IFN se pueden evaluar midiendo IFN- α e IFN- β incluidos en el sobrenadante de cultivo de

pCD. Como resultado de la comparación, cuando la cantidad de IFN en el sobrenadante disminuye significativamente al añadir el anticuerpo, se puede confirmar que el anticuerpo probado tiene la acción de suprimir la capacidad de producir IFN. Se conoce un método para medir estos IFN. pCD es una célula que produce la mayoría de los IFN en un cuerpo vivo. Por lo tanto, al suprimir la capacidad de producir IFN de pCD, puede modularse el estado de producción de IFN en un cuerpo vivo.

En la presente invención, la actividad de pCD incluye el mantenimiento del número de células de pCD. Por lo tanto, la supresión de la actividad de pCD en la presente invención incluye la supresión del número de células de pCD. Si se confirma que el número de células de pCD se suprime en presencia de un anticuerpo, se encuentra que el anticuerpo suprime la actividad de pCD. Como control para comparación, se puede usar una inmunoglobulina inerte procedente de la misma especie animal que la de un anticuerpo cuya actividad debe confirmarse como en la producción de IFN. El número de células de pCD se puede comparar de manera cuantitativa contando el número de células. El número de células se puede contar mediante una FACS o un microscopio.

Asimismo, también se considera que la pCD se diferencia en una célula que induce Th2 denominada CD2 (Célula Dendrítica 2) como resultado de una infección con, por ejemplo, un virus. Si se puede suprimir la producción de IFN de pCD mediante estimulación con un virus, también es posible que se pueda suprimir la diferenciación en Th2. Por lo tanto, se pueden esperar efectos terapéuticos sobre diversas enfermedades alérgicas para el anticuerpo monoclonal de la presente invención que suprime la producción de IFN.

En el caso en que el anticuerpo que reconoce un dominio extracelular de PTPRS humana se administra a un hospedador que es diferente de una especie de organismo de la que procede el anticuerpo, es deseable procesar el anticuerpo en una forma que apenas se reconozca como una sustancia extraña para el hospedador. Por ejemplo, al procesar en las siguientes moléculas, la inmunoglobulina puede hacerse difícil de reconocer como sustancia extraña. Se conoce la técnica para procesar una molécula de inmunoglobulina de la siguiente manera.

- Un fragmento que incluye una región de unión a antígeno que carece de una región constante (Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, tercera edición, Academic Press Limited. 1995; Antibody Engineering, A Practical Approach, IRL PRESS, 1996)

- Un anticuerpo quimérico que está constituido por una región de unión a antígeno de un anticuerpo monoclonal y una región constante de una inmunoglobulina de un hospedador (Experimental Manual for Gene Expression, Kodansha Ltd., 1994 (editado por Isao Ishida y Tamie Ando))

- Un anticuerpo con CDR sustituidas obtenido mediante la sustitución de una región determinante de complementariedad (CDR) en una inmunoglobulina de un hospedador con una CDR de un anticuerpo monoclonal (Experimental Manual for Gene Expression, Kodansha Ltd., 1994 (editado por Isao Ishida y Tamie Ando)).

Como alternativa, puede adquirirse un gen de región variable de inmunoglobulina de un ser humano mediante un proceso de presentación en fagos (McCafferty J. *et al.*, Nature 348: 552-554, 1990; Kretschmar T *et al.*, Curr Opin Biotechnol dic 2002: 13 (6): 598-602). En el proceso de presentación en fagos, un gen que codifica una región variable de inmunoglobulina humana se incorpora en un gen de fago. Se puede preparar una biblioteca de fagos usando diversos genes de inmunoglobulina como fuentes. Un fago expresa la región variable como una proteína de fusión de una proteína que constituye el fago en sí mismo. La región variable en la superficie del fago, que es expresada por el fago, mantiene la actividad de unión con el antígeno. Por lo tanto, al seleccionar un fago que se une con una célula que ha expresado un antígeno, un fago que ha expresado una región variable que tiene una actividad de unión prevista puede seleccionarse de una biblioteca de fagos. Asimismo, un gen que codifica una región variable que tiene una actividad de unión prevista se conserva en las partículas de fago seleccionadas de esta manera. Concretamente, en el proceso de presentación en fagos, un gen que codifica una región variable que tiene una actividad de unión prevista puede adquirirse usando la actividad de unión de la región variable como índice.

En el agente o método para suprimir la actividad de pCD, el anticuerpo que reconoce un dominio extracelular de PTPRS humana o un fragmento de anticuerpo que incluye al menos una región de unión a antígeno del mismo puede administrarse como una proteína o un polinucleótido que codifica la proteína. Para administrar el polinucleótido, es deseable utilizar un vector en el que se ha dispuesto un polinucleótido que codifica una proteína deseada bajo el control de un promotor adecuado de modo que se pueda expresar una proteína deseada. También se puede disponer un potenciador o terminador en el vector. Se conoce un vector que puede conservar genes de una cadena pesada y una cadena ligera que constituyen inmunoglobulina y pueden expresar una molécula de inmunoglobulina. El vector que puede expresar una inmunoglobulina se puede administrar introduciéndolo en una célula. En la administración a un cuerpo vivo, un vector que puede transmitirse a una célula mediante la administración al cuerpo vivo se puede administrar tal como está. Como alternativa, un vector se puede introducir en un linfocito que se ha separado una vez de un cuerpo vivo y después se ha devuelto al cuerpo vivo (*ex vivo*).

En el agente o método para suprimir la actividad de pCD, la cantidad del anticuerpo monoclonal para administrar a un cuerpo vivo como inmunoglobulina es en general de 0,5 mg a 100 mg, por ejemplo, de 1 mg a 50 mg, preferiblemente de 2 mg a 10 mg, por cada 1 kg de peso corporal. Los intervalos de administración del anticuerpo a un cuerpo vivo se pueden modular adecuadamente de modo que se pueda mantener la concentración eficaz de la inmunoglobulina en

un cuerpo vivo durante un periodo terapéutico. Específicamente, el anticuerpo se puede administrar a intervalos de 1 a 2 semanas. La vía de administración es opcional. Una persona experta en la técnica puede seleccionar adecuadamente una vía de administración eficaz para una terapia. Específicamente, se puede mostrar administración oral o parenteral. Por ejemplo, el anticuerpo se puede administrar por vía sistémica o por vía tópica mediante inyección intravenosa, inyección intramuscular, inyección peritoneal o inyección subcutánea. Los ejemplos de formulaciones que son adecuadas para la administración parenteral en la presente invención pueden incluir un agente de inyección, un supositorio y un aerosol. Asimismo, cuando el anticuerpo se proporciona a una célula, se proporciona una inmunoglobulina de, en general, 1 µg/ml, preferiblemente 10 µg/ml o más, más preferiblemente 50 µg/ml o más, aún más preferiblemente 0,5 mg/ml o más.

En el agente o método para suprimir la actividad de pCD, el anticuerpo monoclonal se puede administrar a un cuerpo vivo por cualquier método. En general, el anticuerpo monoclonal se combina con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Cuando sea necesario, se pueden incorporar aditivos, tales como un agente espesante, un estabilizante, un agente antiséptico y un solubilizante en el anticuerpo monoclonal. Los ejemplos de dicho vehículo o aditivo pueden incluir lactosa, ácido cítrico, ácido esteárico, estearato de magnesio, sacarosa, almidón, talco, gelatina, agar, aceites vegetales y etilenglicol. La expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a haber sido aceptado por la supervisión del gobierno de cada país o estar incluido en la farmacopea de cada país o en una farmacopea reconocida en general con respecto al uso en animales, mamíferos y, específicamente, en seres humanos. El agente para suprimir la actividad de pCD se puede proporcionar en forma de un polvo o comprimido liofilizado que incluye una dosis o múltiples dosis. El polvo o comprimido liofilizado se puede combinar además con agua esterilizada inyectable, solución salina fisiológica o tampón para resolver la composición para proporcionar una concentración deseada antes de la administración.

Asimismo, cuando se administra en forma de un vector que expresa una inmunoglobulina, cada plásmido se puede administrar de 0,1 a 10 mg, por ejemplo, de 1 a 5 mg por cada 1 kg de peso corporal, considerando que una cadena pesada y una cadena ligera se cotransfectan como plásmidos separados. Asimismo, para introducir en una célula *in vitro*, se usa un vector de 1 a 5 µg/10⁶ células.

En lo sucesivo en el presente documento, la presente invención se explicará de manera más específica en referencia a los ejemplos, pero la presente invención no se considera limitada por los ejemplos.

Ejemplos

Ejemplo 1

A. Análisis de la expresión de PTPRS A-1)

Análisis que usa la biblioteca SAGE

Se compararon expresiones de un gen en monocitos humanos, pCD y pCD tratados con virus del herpes simple (VHS) y se analizaron mediante un proceso SAGE™ (análisis en serie de la expresión génica). El método de análisis es el siguiente.

Se aisló un monocito como una célula positiva para CD14 y se separó pCD como una célula positiva para BDCA-4 de células mononucleares de sangre periférica humana mediante un clasificador celular. Asimismo, se cultivó pCD en presencia de VHS durante 12 horas para preparar pCD activada. Se obtuvieron ARN de las células respectivas y se preparó una biblioteca SAGE usando un equipo I-SAGE™ (Invitrogen). Los datos de secuencia de bases obtenidos de aproximadamente 100.000 marcadores se analizaron mediante software de análisis SAGE (Invitrogen). Como resultado, como un gen que tiene un valor de puntuación de monocitos/pCD/pCD+VHS de 0/7/0, es decir, un gen que muestra expresión específica de pCD, se encontró un gen conocido: PTPRS (GenBank n.º de referencia NM_002856.3). PTPRS está codificada por la secuencia de bases mostrada en la SEQ ID NO: 2. Asimismo, es un dominio transmembrana individual que tiene un dominio de tipo inmunoglobulina (dominio de tipo Ig) y un dominio de tipo fibronectina tipo III en la región extracelular. Además, tiene dos regiones de proteína tirosina fosfatasa (dominios PTP) en la región intracelular (FIG. 1).

A-2) Análisis de expresión de ARNm de PTPRS en diversas células inmunocompetentes humanas mediante RT-PCR cuantitativa

La expresión de PTPRS en células inmunitarias se analizó con más detalle. Cada célula se aisló de sangre periférica humana mediante un clasificador celular. Se extrajo ARN de cada población celular aislada y se sintetizó ADNc. Usando el ADNc obtenido como molde, se realizó RT-PCR cuantitativa según un proceso general para analizar el nivel de expresión de ARNm de PTPRS. Mediante normalización con el nivel de expresión de un gen de GAPDH (gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa) que se sabe que se expresa de manera constante, se comparó la expresión del gen de PTPRS entre células inmunitarias.

Las secuencias de bases de los cebadores usados y las condiciones para PCR son las siguientes.

Cebador directo para PTPRS: 5' CAC GGC CTA TGA CCT CCA 3' (SEQ ID NO: 3)

Cebador inverso para PTPRS: 5' AAG TTC TTG GGC GAG ACT TG 3' (SEQ ID NO: 4)

Cebador directo para GAPDH: 5' CCA CCC ATG GCA AAT TCC 3' (SEQ ID NO: 5)

Cebador inverso para GAPDH: 5' TGG GAT TTC CAT TGA TGA CAA G 3' (SEQ ID NO: 6)

1 ciclo a 50 °C durante 2 minutos,

5 1 ciclo a 95 °C durante 10 minutos y

50 ciclos [a 95 °C durante 15 segundos y a 60 °C durante 60 segundos].

10 Se analizaron un monocito, pCD, pCD estimulada con VHS, un linfocito B (linfocito CD19+), un linfocito T (linfocito CD3+), un linfocito T activado estimulado con PMA (forbol 12-miristato 13-acetato) y un linfocito NK (linfocito CD56+), y se mostró que PTPRS se expresaba de una manera específica de pCD. Asimismo, se descubrió como característica que la expresión de PTPRS disminuye por la pCD estimulada con VHS (FIG. 2).

A-3) Análisis de expresión de ARNm de PTPRS en tejido humano mediante RT-PCR cuantitativa

15 Asimismo, se estudió la expresión en tejidos mediante PCR cuantitativa usando ABI PRISM 7000 (Applied Biosystem). Como paneles de ADNc, se usaron paneles de ADNc de múltiples tejidos BD™ MTC (humano I; cat. n.º 636742, inmunitario humano; cat. n.º 636748, fracciones de sangre humana; cat. n.º 636750; todos de Becton Dickinson). Las secuencias de bases de los cebadores usados se muestran a continuación.

Cebador directo para PTPRS: 5' ACT CAC CCA CAC CCT ACA AGA 3' (SEQ ID NO: 7)

Cebador inverso para PTPRS: 5' CTT GGT GGT ACG GCC ATC 3' (SEQ ID NO: 8)

Cebador directo para GAPDH: 5' CCA CCC ATG GCA AAT TCC 3' (SEQ ID NO: 5)

Cebador inverso para GAPDH: 5' TGG GAT TTC CAT TGATGA CAA G 3' (SEQ ID NO: 6)

20 Usando un equipo de mezcla maestra de PCR verde SYBR (Applied Biosystem), Se realizó PCR mediante ABI PRISM 7000 disponible de la misma compañía. Para el análisis se usó software del sistema de detección de secuencias disponible de la misma compañía. Las condiciones de reacción son las siguientes.

Etapa 1: 1 ciclo a 50 °C durante 2 minutos

Etapa 2: 1 ciclo a 95 °C durante 10 minutos

25 Etapa 3: 40 ciclos a 95 °C durante 15 segundos y a 60 °C durante 1 minuto. Mediante normalización con el nivel de expresión de un gen de GAPDH (gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa) que se sabe que se expresa constantemente, se comparó la expresión del gen de PTPRS entre tejidos. Como resultado, el ARNm de PTPRS se expresó ampliamente en los tejidos (FIG. 3).

B. Preparación del vector de expresión de PTPRS

30 Para expresar una proteína de PTPRS, se realizó preparación de un vector de expresión de un gen de PTPRS. Solo se extrajo un gen de PTPRS de un clon de ADNc de PTPRS que se había incorporado en un vector de clonación pCR4-TOPO (Open Biosystem cc n.º MHS1010-98052887) y se incorporó en un vector de expresión pcDNA3.1 (PTPRS/pcDNA3.1). Usando el plásmido PTPRS/pcDNA3.1 obtenido como un molde, el gen de PTPRS se amplificó con un cebador que incluye EcoRI, Not I y secuencia de Kozak (GCC GCC ACC) (la información sobre el cebador se muestra a continuación). El producto de PCR se clonó en un vector retrovírico pMX-IP en los sitios EcoRI y Not I (PTPRS/pMX-IP). Para la reacción de PCR, se usó una unidad de ADN polimerasa KOD Plus (TOYOBO) y las condiciones de reacción fueron 1 ciclo a 94 °C durante 2 minutos y 25 ciclos [a 94 °C, 15 segundos y a 68 °C durante 4 minutos y 30 segundos].

Cebador directo (SEQ ID NO: 9): 5' aaa GAATTC gcc gcc acc ATG GCG CCC ACC TGG GGC CCT 3'

40 Cebador inverso (SEQ ID NO: 10): 5' aaa gcg gcc gcT TAG GTT GCATAG TGG TCAAAG C 3'

En las secuencias de bases mencionadas anteriormente, los caracteres pequeños representan los sitios de escisión de la enzima de restricción EcoRI o los sitios de Not I. El aaa en el extremo 5' es una base adicional para escisión enzimática.

C. Preparación de células que expresan PTPRS humana (hPTPRS)

45 Para preparar un retrovirus que contenga el gen de PTPRS, se transfectó transitoriamente una célula HEK-293T que es una cepa de células de riñón de un embrión humano con PTPRS/pMX-IP y un vector de empaquetamiento de retrovirus PCL-ECO mediante equipo FuGENE (Roche). Dos días después, el sobrenadante de cultivo celular en el

que se recogió un virus que incluye un gen de hPTPRS y se infectó con una célula D2SC/1 que es una célula dendrítica procedente del bazo de un ratón BALB/c (este se preparó basado en Paglia *et al.*, J. Exp. Med., 178, 1893-1901 (1993)). Ya que el vector retrovítico pMX-IP incluye un gen de resistencia a la puomicina, solo una célula que expresa hPTPRS puede sobrevivir cultivando la célula D2SC/1 infectada con puomicina, por lo tanto se hace posible la selección. Las células D2SC/1 que expresaban hPTPRS se seleccionaron mediante clasificación FACS y se cultivaron. Para confirmar la expresión de hPTPRS, se añadieron 10 µg/ml de IgG de cabra (SantaCruz) y un anticuerpo policlonal de hPTPRS disponible en el mercado (pAb; R&D) a las células hPTPRS/D2SC/1 seleccionadas en 100 µl cada uno, y la mezcla se incubó a 4 °C durante 30 minutos. La célula se lavó con PBS y después se añadió un anticuerpo anti-IgG de cabra marcado con FITC (SantaCruz) diluido 100 veces en 50 µl y la mezcla se incubó a 4 °C durante 30 minutos. Después de lavar con PBS, los datos fueron importados por FACSCalibur (BD) (FIG. 4).

Ejemplo 2

A. Preparación del anticuerpo monoclonal anti-PTPRS humano

A-1) Inmunización

Como una célula usada como inmunógeno, se usó la célula hPTPRS/D2SC/1 mencionada anteriormente. Se anestesiaron ratones BALB/c y se inyectó por vía subcutánea una emulsión de adyuvante completo de Freund (CFA) a las almohadillas plantares en 50 µl por cada pie. El total fue de 100 µl/ratón. Al día siguiente, se preparó una emulsión usando una célula hPTPRS/D2SC/1 preparada como inmunógeno y un adyuvante incompleto de Freund (IFA) y se inyectó por vía subcutánea en las almohadillas plantares (50 µl/pie, total 100 µl/ratón). Se realizó inmunización cada dos días tres veces en total y los ganglios linfáticos de extracción se recogieron a los 3 días después de la última inmunización.

A-2) Fusión celular

Las células de los ganglios linfáticos de extracción se recogieron de ambos pies de un ratón inmunizado y se mezclaron con una célula de mieloma de ratón P3-X63-Ag8.563 que se había cultivado en un medio RPMI1640 (SIGMA) que incluía FBS al 10 % de modo que la relación de las células de los ganglios linfáticos y las células de mieloma se convirtieron en 5:4 y las células se recogieron mediante centrifugación. Se añadió PEG1500 (Roche) a las células mixtas para fusión celular. La célula fusionada (hibridoma) se lavó y se cultivó en suero bovino fetal al (FBS) 10 % que incluía un complemento de crecimiento celular+medio HAT (Sigma)-RPMI1640 (que incluía L-glutamina 2 mM, 100 unidades/ml de penicilina, estreptomycin 100 µg/ml, HEPES 10 mM, piruvato de sodio 1 mM, 2-ME 50 µM).

A-3) Exploración por FACS de hibridoma usando células hPTPRS/D2SC/1 inmunizadas

Se añadió un anti-CD 16/32 (2.4G2) preparado a 2,5 µg/ml en 50 µl a 3×10^5 /pocillo de la célula D2SC/1 o célula hPTPRS/D2SC/1 para bloquear un receptor de FC. Después de lavar con PBS, se añadieron una IgG de cabra preparada a 10 µg/ml, un pAb anti-hPTPRS (R&D) disponible en el mercado, una IgG_{2ak} (BioLegend) de ratón y el sobrenadante de cultivo del hibridoma cultivado en 60 µl cada uno y la mezcla se incubó a 4 °C durante 60 minutos. Después de lavar con PBS, se añadieron un anticuerpo anti-IgG de cabra marcado con FITC diluido 50 veces y un anticuerpo anti-IgG de ratón (BD) marcado con PE diluido 100 veces a las células en 50 µl cada uno y la mezcla se incubó a 4 °C durante 30 minutos con protección de la luz. Después de lavar con PBS, la célula se suspendió en 200 µl de PBS. Los datos fueron recogieron mediante FACS Calibur (BD). Los datos recogidos se desarrollaron mediante gráficos de puntos de FSC y SSC para seleccionar una célula viva. Los datos se recogieron hasta que los datos de la célula en esta selección alcanzaron un recuento de 2.000. Como resultado, se pudieron obtener 13 hibridomas que producen un anticuerpo anti-hPTPRS (2G6, 28G10, 4B2, 2G2, 9H5, 10F7, 22H8, 49F2, 9D2, 14A8, 55E7, 13G5, 16H2) (FIG. 5).

A-4) Exploración por FACS usando la célula CAF-1

Se tiñeron 3×10^5 células de una cepa celular de tipo pCD humana CAF-1 en 50 µl del sobrenadante de cultivo de cada hibridoma mencionado anteriormente durante 15 minutos a 4 °C. Las células se lavaron una vez con tampón de FACS (FBS+PBS al 1 %) y después se centrifugaron para eliminar el sobrenadante. Después se hicieron reaccionar 2 µg/ml de un anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con PE a 4 °C durante 20 minutos. Las células se lavaron una vez con un tampón de FACS y se centrifugaron. El sedimento celular se resuspendió con un tampón de FACS y se analizó mediante Calibur. Como resultado, 2G6, 4B2, 2G2, 9H5, 10F7, 22H8, 49F2, 14A8, 55E7, 13G5 y 16H2 en el sobrenadante de cultivo de hibridoma reaccionaron bien con CAF-1. Por otro lado, 28G10 y 9D2 reaccionaron poco (FIG. 6).

A-5) Exploración de FACS usando pCD de sangre periférica humana [Aislamiento de PBMC humanas]

Se recogieron 20 ml de sangre periférica de un ser humano sano y se aislaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) mediante centrifugación de densidad relativa usando HISTOPAQUE-1077 (SIGMA). 1×10^6 de PBMC se tiñeron con cada muestra. Las células se lavaron con un tampón de FACS, se añadió un reactivo de bloqueo de Fc (Miltenyi) en 25 µl por dilución de 5 veces y se realizó una reacción a 4 °C durante 15 minutos. Después de lavar con un tampón de FACS, se añadieron 50 µl del sobrenadante de cultivo celular de cada hibridoma, 10 µg/ml de una

IgG de cabra, un pAb anti-hTPPRS y una IgG2a,k de ratón y se realizó una reacción a 4 °C durante 20 minutos. Después de lavar con un tampón de FACS, se añadieron 8 µg/ml de un anticuerpo anti-IgG de cabra marcado con FITC o 2 µg/ml de un anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con PE, y se realizó una reacción a 4 °C durante 20 minutos. Después de lavar con un tampón de FACS, se hicieron reaccionar 50 µl de un anticuerpo anti-BDCA2 marcado con APC mediante dilución 10 veces a 4 °C durante 20 minutos. Después de lavar con un tampón de FACS, la célula se resuspendió en 300 µl de un tampón de FACS y se analizó mediante FACS calibur. Como resultado, 2G6, 28G10, 4B2, 2G2, 9H5, 10F7, 22H8, 49F2, 14A8, 55E7 y 13G5 mostraron una reacción de unión específica para la población de células pCD. 9D2 mostró unión con pCD y también mostró reacciones con el grupo celular distinto de pCD (BDCA2-). 16H2 no mostró una reacción para las PBMC (FIG. 7).

10 Prueba de especificidad del anticuerpo anti-TPPRS

TPPRS pertenece a la familia de PTPR y las secuencias de aminoácidos de las varias moléculas de la familia de las mismas tienen alta homología frente a la secuencia de aminoácidos de PTPRS (FIG. 8).

A-6) Se examinó si los 10 tipos de sobrenadantes de cultivo celular de hibridoma que generan un anticuerpo que reconoce PTPRS y se une específicamente con pCD humana (2G6, 4B2, 2G2, 9H5, 10F7, 22H8, 49F2, 14A8, 55E7, 13G5) se unen o no específicamente solo con PTPRS. Las células transfectadas de PTPRA (40 %), PTPRD (76 %) y PTPRF (67 %) que tenían homología específicamente alta con PTPRS se prepararon expresando un marcador FLAG en el extremo N de la molécula y se tiñeron. Se confirmó la expresión de hPTPRE en las células transfectadas mediante transferencia de Western, pero no se pudo confirmar la expresión en la superficie celular. Por lo tanto, hPTPRE no se expresó en la superficie celular. Como resultado, 4B2 reaccionó con hPTPRD (FIG. 9C) y 2G6 mostró reactividad cruzada con hPTPRF (FIG. 9D). Otros 8 tipos de anticuerpos mostraron unión específica a PTPRS (FIGS. 9A-D).

A-7) Reactividad cruzada del anticuerpo anti-TPPRS con mono

Se aislaron PBMC de un mono cinomolgo de sangre periférica (10 ml; Shin-Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.) mediante centrifugación por densidad relativa utilizando HISTOPAQUE-1077 (SIGMA). Para FACS, se usaron 5×10^5 células por cada muestra. Las células se lavaron con un tampón de FACS y se añadieron a las mismas 10 µl de suero de cinomolgo al 10 % diluido con un tampón de FACS, y se realizó una reacción a 4 °C durante 20 minutos. Después de lavar con un tampón de FACS, se añadieron 100 µl del sobrenadante de cultivo celular de cada hibridoma y 10 µg/ml de un IgG2a,k de ratón o IgG1,k de ratón (BioLegend) y se realizó una reacción a 4 °C durante 15 minutos. Después de lavar con un tampón de FACS, se añadió 1 µg/ml de un anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con APC (BD) y se realizó una reacción a 4 °C durante 20 minutos. Después de lavar con un tampón de FACS, se hicieron reaccionar un anticuerpo anti-linaje I (BD) marcado con FITC, un anticuerpo anti-CD 123 marcado con PE (BD) y un anticuerpo anti-HLA-DR marcado con PerCP7Cy5.5 (BD) en 25 µl por dilución 10 veces a 4 °C durante 15 minutos. Después de lavar con un tampón de FACS, las células se resuspendieron en 300 µl de un tampón de FACS y se analizaron mediante FACS calibur. Como los sobrenadantes de cultivo de hibridoma usados, se seleccionaron 7 tipos: 49F2, 55E7, 14A8, 13G5, 10F7, 22H8 y 9H5 que son específicos de PTPRS y se unen bien con una célula CAL-1 y pCD humana. Como resultado, todos los sobrenadantes de cultivo celular de hibridoma se unieron específicamente con el grupo de población de pCD (linaje-CD123 + HLA-DR+) del mono cinomolgo (FIG. 10).

A-8) Individualización de hibridoma

Cada uno de los 7 tipos de hibridomas mencionados anteriormente (49F2, 55E7, 14A8, 13G5, 10F7, 22H8 y 9H5) se recogieron y suspendieron en un tampón de clasificación (FBS/PBS al 1 %) para convertirse en 1×10^5 células/ml. Usando FACS Aria (BD), se realizó clasificación de células individuales. Se recogieron los datos y los datos recogidos se desarrollaron mediante un gráfico de puntos bidimensional de eje X: FSC y eje Y: SSC. Las células vivas se clasificaron en el gráfico de puntos. Se realizó clasificación para eliminar duplicaciones de la célula en la clasificación de células vivas y la población celular se distribuyó en una placa de fondo plano de 96 pocillos para que fuera de 1 célula/pocillo. La célula sometida a la clasificación de células individuales se cultivó en un medio HAT (RPMI1640+L-Glutamina 2 mM, 100 unidades/ml de penicilina, estreptomycin 100 µg/ml, HEPES 10 mM, piruvato de sodio 1 mM y 2-ME 50 µM)+un complemento de crecimiento de hibridoma HFCS (Roche). Posteriormente, la célula D2SC y la célula hTPPRS/D2SC (FIG. 11A y B), la célula CAL-1 (FIG. 11C) y pCD humana (FIG. 11D) se tiñeron usando el sobrenadante de cultivo celular del hibridoma y se seleccionó un único hibridoma.

Ejemplo 3

50 Purificación de anticuerpo

Se obtuvieron ocho tipos de anticuerpos purificados (9H5-4, 10F7-38, 13G5-52, 13G5-57, 14A8-85, 22H8-84, 49F2-30 y 55E7-79) del sobrenadante de cultivo de los hibridomas mediante purificación usando proteína G Sepharose FastFlow (GE Healthcare). Usando el equipo de isotipado de mAb de ratón ELISA rápido Pierce (Thermo Fisher Scientific), se determinaron los isotipos. Como resultado, 13G5-52 y 13G5-57 fueron IgG2b de ratón, k, 55E7-79 tenía tanto IgG2b de ratón, k como IgG1 de ratón, k y otros fueron IgG1 de ratón, k. Si el anticuerpo purificado incluye endotoxina, puede afectar al resultado de una prueba de determinación de propiedad. Por lo tanto, se midió la concentración de endotoxina. Los kits usados fueron el conjunto Endospecy ES-50M, el conjunto Toxicolor DIA-MP y el conjunto de producto convencional de endotoxina CSE-L (todos de Seikagaku Biobusiness Corporation). Como

resultado de ello, todos los anticuerpos purificados tenían una concentración de endotoxina igual o menor que el valor convencional de 0,3 UE/mg de Ab (FIG. 12).

5 Estudio sobre la reactividad del anticuerpo purificado Las capacidades de unión de los anticuerpos purificados se confirmaron mediante una célula de la cepa celular de tipo pCD humana CAL-1 (FIG. 13). Además, todos los anticuerpos mantuvieron una capacidad de unión contra la población de pCD humanas de sangre periférica humana (BDCA2+) (FIG. 14).

10 La homología de la secuencia de aminoácidos de PTPRS humana contra PTPRS de ratón (mPTPRS) es de aproximadamente 96 %. Ya que son notablemente similares entre sí, se estudió si el anticuerpo anti-PTPRS humana preparado también se une con PTPRS de ratón. Una célula CHO en la que el gen de mPTPRS se había expresado de manera forzosa (célula de ovario de hámster chino; denominada en lo sucesivo en el presente documento mPTPRS/CHO) se tiñó con 10 µg/ml de cada anticuerpo anti-PTPRS. El número de células fue de 2×10^5 por cada muestra. Después de lavar con un tampón de FACS, un anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con PE se diluyó 50 veces y se tiñó con 25 µl. Como resultado, 49F2-30, 13G5-52, 13G5-57 y 22H8-84 se unían con mPTPRS/CHO (FIG. 15).

Ejemplo 4

15 Citotoxicidad celular dependiente del complemento del anticuerpo anti-PTPRS para la célula que expresa hPTPRS

Usando suero de cría de conejo como fuente de complemento, se midió la citotoxicidad celular dependiente del complemento (denominada en lo sucesivo en el presente documento actividad CDC) del anticuerpo anti-PTPRS contra una célula CHO que expresa PTPRS humana (denominada en lo sucesivo en el presente documento hPTPRS/CHO) y una célula PTPRS/CHO de ratón (denominada en lo sucesivo en el presente documento mPTPRS/CHO). Se obtuvo la actividad usando toxicidad celular que se calculó a partir de un valor medido de lactasa deshidrogenasa (LDH) liberada de la célula como índice. Cada célula se distribuyó en una placa de fondo en U de 96 pocillos en 2×10^4 células/50 µl/pocillo. Se preparó un complemento al 18 % (CEDARLANE) mediante un medio CDC (RPMI1640+BSA 0,1 % +HEPES 10 mM +F-Glutamina 2 mM +penicilina 100 Unidades/ml +estreptomycin 100 µg/ml). Se prepararon dos tipos: 3,3 µg/ml y 30 µg/ml para un anticuerpo de control (IgG1 de ratón, k o IgG2b de ratón, k) y un anticuerpo anti-PTPRS. Se realizó un ensayo usando un equipo de ensayo de citotoxicidad no radioactivo CytoTox 96 (Promega). Como resultado, 13G5-52 y 13G5-57 mostraron aproximadamente 20 % de actividad de CDC contra la diana de hPTPRS/CHO (FIG. 16A). Por otro lado, 13G5-52 y 13G5-57 mostraron aproximadamente 100 % de actividad de CDC contra la diana de mPTPRS/CHO (FIG. 16B).

Ejemplo 5

30 Preparación de anticuerpo quimerizado

Como hibridoma para la producción de un anticuerpo de ratón anti-PTPRS, se usó el siguiente.

Hibridoma 9H5-4 (n.º de referencia: FERM BP-11356)

Hibridoma 10F7-38 (n.º de referencia: FERM BP-11357)

Hibridoma 13G5-52 (n.º de referencia: FERM BP-11358)

35 Hibridoma 13G5-57 (n.º de referencia: FERM BP-11359)

Hibridoma 14A8-85 (n.º de referencia: FERM BP-11360)

Hibridoma 22H8-84 (n.º de referencia: FERM BP-11361)

Hibridoma 49F2-30 (n.º de referencia: FERM BP-11362)

1. Confirmación de isotipo de región constante

40 Se confirmó el isotipo de la región constante de cada uno de los anticuerpos de ratón producidos a partir de siete hibridomas (9H5-4, 10F7-38, 13G5-52, 13G5-57, 14A8-85, 22H8-84 y 49F2-30).

Para la confirmación, se usaron un equipo de isotipado de anticuerpos monoclonales de ratón (n.º de catálogo: MMT1; Serotec Product; Oxford, Reino Unido) o equipo de isotipado de mAb de ratón Pierce Rapid EFISA (Thermo Fisher Scientific) y dicho sobrenadante de cultivo de hibridoma 9H5-4, 10F7-38, 13G5-52, 13G5-57, 14A8-85, 22H8-84 y 49F2-30 como muestra.

45 Como resultado, el isotipo de los anticuerpos producidos por los hibridomas 13G5-52 y 13G5-57 era un isotipo que incluía IgG2b de ratón como cadena pesada y k como cadena ligera. Por otro lado, el isotipo de los anticuerpos producidos por los hibridomas 9H5-4, 10F7-38, 14A8-85, 22H8-84 y 49F2-30 era un isotipo que incluía IgG1 de ratón como cadena pesada y k como cadena ligera.

50

2. Clonación de ADNc que codifica la región variable del anticuerpo de ratón anti-PTPRS

2-1) Aislamiento de ARN total

5 Usando un equipo disponible en el mercado "mini equipo RNeasy" (Qiagen, N.º de catálogo: 74106), se aisló el ARN total de siete hibridomas según las instrucciones adjuntas al equipo. Se obtuvieron aproximadamente 30 µg del ARN total mediante preparación a partir de la cepa celular de hibridoma con un número de células de 5×10^6 .

2-2) Amplificación y fragmentación de ADNc que codifica la región variable de cadena pesada de ratón

10 Usando 5 µg del ARN total aislado en 2-1), el ADNc que codifica la región variable de la cadena pesada de ratón se amplificó mediante el proceso de PCR RACE 5'. En la amplificación, se usó un equipo disponible en el mercado "Sistema RACE 5' para amplificación rápida de extremos de ADNc, equipo de versión 2.0" (Invitrogen, n.º de catálogo: 18374-058). Los detalles son los siguientes. En primer lugar, se sintetizó una primera cadena de ADNc a partir del ARN total obtenido en 2-1) por una transcriptasa inversa. En ese momento, se usó el cebador antisentido (GSP1) mostrado a continuación.

15 El cebador GSP1 usado para amplificación de ADNc se usa según el isotipo de cada cadena pesada de ratón. Por ejemplo, se usan los siguientes cebadores antisentido para la clonación de la región variable de cadena pesada de los hibridomas 9H5-4, 10F7-38, 14A8-85, 22H8-84 y 49F2-30, incluyendo IgG1 de ratón como cadena pesada.

Cebador de GSP1: mu IgG1 VH-GSP1

Secuencia: 5'-CCA GGA GAG TGG GAG AGG CTC TTC TCAGTATGG TGG-3' (36 unidades) (SEQ ID NO: 39)

Cebador de GSP2: mu IgG1 VH-GSP2

Secuencia: 5'-GGC TCA GGG AAA TAG CCC TTG ACC AGG CAT CC-3' (32 unidades) (SEQ ID NO: 40)

20 Además, por ejemplo, se pueden usar los siguientes cebadores antisentido para la clonación de la región variable de cadena pesada de los hibridomas 9H5-4, 10F7-38, 14A8-85, 22H8-84 y 49F2-30, incluyendo IgG1 de ratón como cadena pesada.

Cebador de GSP1: mu IgGHy1-GSP1

Secuencia: 5'-TCC AGAGTT CCAGGT CAC TGT CAC-3' (24 unidades) (SEQ ID NO: 11)

25 Cebador de GSP2: mu IgG Hy1-GSP2

Secuencia: 5'-AGG GGC CAG TGG ATAGAC AGATGG-3' (32 unidades) (SEQ ID NO: 13)

Y se usan los siguientes cebadores antisentido para la clonación de la región variable de cadena pesada de los hibridomas 13G5-52 y 13G5-57, incluyendo IgG2b de ratón como cadena pesada.

Cebador de GSP1: mu IgGHy 2B-GSP1

30 Secuencia: 5'-TCC AGA GTT CCAAGT CAC AGT CAC-3' (24 unidades) (SEQ ID NO: 41)

Cebador de GSP2: mu IgG Hy 2B-GSP2

Secuencia: 5'-AGG GGC CAG TGG ATAGAC TGA TGG-3' (24 unidades) (SEQ ID NO: 42)

35 Asimismo, usando una desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT) en el extremo 3' del ADNc de la primera cadena, se añadió un homopolímero de nucleótidos dC. Asimismo, usando un cebador de anclaje que tiene un polímero de nucleótidos que es complementario del dC (secuencia de anclaje) (SEQ ID NO: 12) y el cebador antisentido (GSP2), el ADNc se amplificó mediante un proceso de PCR. Asimismo, usando el producto de PCR obtenido como molde y usando un cebador AUAP (SEQ ID NO: 14) y el cebador antisentido (GSP2), el ADNc se amplificó mediante un proceso de PCR anidada. Asimismo, este producto de PCR se purificó mediante un proceso de agarosa de punto de fusión bajo al 1,5 %.

40 Cebador de anclaje para 5'RACE (SEQ ID NO: 12): 5'-GGC CAC GCG TCG ACT AGT ACG GGI IGG GII GGG IIG-3' (36 unidades)

Cebador de AUAP para 5'RACE (SEQ ID NO: 14): 5'-GGC CAC GCG TCG ACT AGT AC-3' (20 unidades)

2-3) Amplificación y fragmentación de ADNc que codifica la región variable de cadena ligera de ratón Del ARN total aislado en 2-1), un ADNc que codifica la región variable de cadena ligera de ratón se amplificó de manera similar a 2-2).

45 Ya que estos siete anticuerpos incluyen cadena ligera k de Ig de ratón, se usan los siguientes cebadores antisentido para la clonación de la cadena ligera.

Cebador de GSP1: Mu IgVL5RACE-GSP1

Secuencia: 5'-TTC ACT GCC ATC AAT CTT CCACTT-3' (24 unidades) (SEQ ID NO: 15)

Cebador de GSP2: Mu IgVL5RACE-GSP2

Secuencia: 5'-GAT GGATAC AGT TGG TGC AGC-3' (21 unidades) (SEQ ID NO: 16)

- 5 El producto de PCR obtenido se purificó mediante un proceso de agarosa de punto de fusión bajo al 1,5 %.

2-4) Confirmación de la secuencia de bases de ADNc y determinación de la región CDR

10 Los fragmentos de ADNc de la región variable de cadena pesada obtenida en 2-2) y la región variable de cadena ligera obtenida en 2-3) se clonaron cada uno en un vector pCR4Blunt-TOPO usando un equipo disponible en el mercado "equipo de clonación de PCR Zero Blunt TOPO" (Invitrogen, n.º de catálogo: 1325137), según las instrucciones adjuntas al equipo, y se introdujo en una célula competente de *E. coli* para proporcionar un transformante de *E. coli*. Se obtuvo un plásmido de este transformante y se envió una muestra de ADN plasmídico a Operon Biotechnology Co. Ltd (Tokio) para análisis de secuencia para confirmar la secuencia de bases de ADNc en el plásmido. Para el análisis de las secuencias, se usaron "software de análisis y ensamblaje de secuencias de ADN Sequencher, versión 4.2.2 (Gene Codes Corporation)" y software "GENETYX-MAC versión 11. 1.1" (GENETYX CORPORATION)".

15 Se excluyeron los transformantes que se convirtieron en ARN inactivos desde que se produjeron cambio de marco, mutaciones sin sentido y similares alrededor de una región determinante de complementariedad (en lo sucesivo en el presente documento denominada "región CDR") y se extrajeron los transformantes que tenían secuencias correctas. Asimismo, la base de datos de inmunoglobulinas (IgBLAST, URL: www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/) y la homología se confirmaron para la secuencia de bases de ADNc incluida en el plásmido para determinar las secuencias de la región CDR (CDR1, CDR2, CDR3) en cada región variable, La región marco conservada y la secuencia de la región variable se determinaron según el método de análisis usando el sistema de numeración de Kabat (Rabat *et al.*, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Publicación de los Institutos Nacionales de Salud n.º 91-3242, 5ª ed., Departamento de Salud y Servicios Sociales de los Estados Unidos, Bethesda, MD).

25 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 de ratón anti-PTPRS obtenido fue la SEQ ID NO: 43 y la secuencia de aminoácidos fue la SEQ ID NO: 44. Las secuencias de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 de ratón fueron las SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 y SEQ ID NO: 47, respectivamente.

30 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 de ratón anti-PTPRS obtenido es la SEQ ID NO: 48 y la secuencia de aminoácidos es la SEQ ID NO: 49. Las secuencias de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 de ratón son las SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51 y SEQ ID NO: 52, respectivamente.

Y las secuencias de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del anticuerpo 10F7-38 de ratón anti-PTPRS obtenido y el anticuerpo 14A8-85 fueron las mismas que las del anticuerpo 9H5-4, incluyendo las secuencias de la CDR1, CDR2 y CDR3.

35 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 de ratón anti-PTPRS obtenido fue la SEQ ID NO: 53 y la secuencia de aminoácidos fue la SEQ ID NO: 54. Las secuencias de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 de ratón fueron las SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56 y SEQ ID NO: 57, respectivamente.

40 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 de ratón anti-PTPRS obtenido es la SEQ ID NO: 58 y la secuencia de aminoácidos es la SEQ ID NO: 59. Las secuencias de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 de ratón son las SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61 y SEQ ID NO: 62, respectivamente.

45 Y las secuencias de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13G5-52 de ratón anti-PTPRS obtenido fueron las mismas que las del anticuerpo 13G5-57, incluyendo las secuencias de la CDR1, CDR2 y CDR3.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 de ratón anti-PTPRS obtenido fue la SEQ ID NO: 63 y la secuencia de aminoácidos fue la SEQ ID NO: 64. Las secuencias de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 de ratón fueron las SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66 y SEQ ID NO: 67, respectivamente.

50 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 de ratón anti-PTPRS obtenido es la SEQ ID NO: 68 y la secuencia de aminoácidos es la SEQ ID NO: 69. Las secuencias de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 de ratón son las SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 72, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 de ratón anti-PTPRS obtenido fue la SEQ ID NO: 25 y la secuencia de aminoácidos fue la SEQ ID NO: 26. Las secuencias de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 de ratón son las SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28 y SEQ ID NO: 29, respectivamente.

5 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 de ratón anti-PTPRS obtenido es la SEQ ID NO: 30 y la secuencia de aminoácidos es la SEQ ID NO: 31. Las secuencias de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 de ratón son las SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34, respectivamente.

10 A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico (471 pb) de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 de ratón anti-PTPRS obtenido (SEQ ID NO: 43). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 9H5-4 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 de ratón.

ATGGAGTTGGGACTGAGCTGGGTATTTCTTGTGGCTCTTTTGAATGGTGTCCAGTGTG
 AGGTGCAGCTTGTAGAGACCGGGGAGGCTTGGTGAGGCCTGGAAATTCTCTGAAA
 CTCTCCTGTGTTACCTCGGGATTCACTTTCAGTAACTACCGGATGCACTGGCTTCGCC
 AGCCTCCAGGGAAGAGGCTGGAGTGGATTGCTGTAATTACAGTCAAATCTGATAATTA
 TGGAGCAAATTATGCAGAGTCTGTGAAAGGCAGATTCACTATTTCAAGAGATGATTCA
 AAAAGCAGTGTCTACCTGCAGATGAACAGATTAAGAGAGGAAGACACTGCCACTTAT
 TATTGTAGTAGATCGGTCTACTATGGTTACGTCCTAGCCTTTGACTACTGGGGCCAAGG
 CACCACTCTCACAGTCTCCTCAgcca^{aa}acgacacccccatctgtctatccactggcccctaagggc

15 A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos (157 aa) de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 de ratón (SEQ ID NO: 44). Las letras mayúsculas muestran la secuencia de región variable VH y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 de ratón. La parte subrayada significa la secuencia señal y la parte con doble subrayado significa la región CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

MELGLSWVFLVALLNGVQCQVQLVETGGGLVLRPGNSLKLSCVTSGFTFSNYRMHWLRQ
 PPGKRLEWIAVITVKSDNYGANYAESVKGRFRTISRDDSKSSVYLQMNRLREEDTATYYC
 SRSVYYGYVLAFDYWGQGTTLTVSSaktppsvyplapkg

20 La CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 es NYRMH (SEQ ID NO: 45), la CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 es VITVKSDNYGANYAESVKG (SEQ ID NO: 46) y la CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 es SVYYGYVLAFDY (SEQ ID NO: 47).

A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico (402 pb) de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 de ratón anti-PTPRS obtenido (SEQ ID NO: 48). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 9H5-4 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig de ratón.

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATG
 TGATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTC
 ACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGA
 AACCAGATGGA^{aa}ACTGTTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGT
 CCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAAC
 CTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTGGA
 CGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACggggctgatgtgcaccaact

25 A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos (134 aa) de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 de ratón (SEQ ID NO: 49). Las letras mayúsculas muestran la secuencia de región variable VH de 9H5-4 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig de ratón. La parte subrayada

significa la secuencia señal y la parte con doble subrayado significa la región CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK
PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFGG
 GTKLEIKradaapt

5 La CDR1 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 es RASQDISNYLN (SEQ ID NO: 50), la CDR2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 es YTSRLHS (SEQ ID NO: 51) y la CDR3 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 es QQGNTLP (SEQ ID NO: 52).

A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico (465 pb) de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 de ratón anti-PTPRS (SEQ ID NO: 53). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 13G5-57 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón.

ATGAACTTGGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGTCCCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTGTG
 AAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAAA
 CTCTCCTGTGCAACCTCTGGATTCACTTTCAGTGACTATTACATGTATTGGGTTCCCCA
 GACTCCAGAGAAGAGGCTGGAGTGGGTCGCATACATTAGTAATGGTGGTGGTAGCAC
 CTATTATCCAGACACTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAAC
 ACCCTGTACCTGCAAAATGAGCCGTCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTG
 CAAGACATGTTTACTACGGGAGGAACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCT
 CAGTCACCGTCTCCTCAgccc^aaaacaacacccccatcagtctatccactggcccctaagggc

10 A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos (155 aa) de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 de ratón (SEQ ID NO: 54). Las letras mayúsculas muestran la secuencia de región variable VH y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón. La parte subrayada significa la secuencia señal y la parte con doble subrayado significa la región CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

MNLGLSLIFLVLVLKGVQCEVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYYMYWVRQT
 PEKRLEWVAYISNGGGSTYYPDTVKGRFTISRDNKNTLYLQMSRLKSEDTAMYYCAR
HVYYGRNYAMDYWGQTSVTVSSaktppsvyplapkg

15 La CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 es DYYMY (SEQ ID NO: 55), la CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 es YISNGGGSTYYPDTVKG (SEQ ID NO: 56) y la CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 es HVYYGRNYAMDY (SEQ ID NO: 57).

20 A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico (465 pb) de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 de ratón anti-PTPRS obtenido (SEQ ID NO: 58). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 13G5-57 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig de ratón.

ATGAACTTGGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGTCCCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTGTG
 AAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAAA

CTCTCCTGTGCAACCTCTGGATTCACTTTCAGTGACTATTACATGTATTGGGTTCGCCA
 GACTCCAGAGAAGAGGCTGGAGTGGGTCGCATACATTAGTAATGGTGGTGGTAGCAC
 CTATTATCCAGACACTGTAAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAAC
 ACCCTGTACCTGCAAATGAGCCGTCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTG
 CAAGACATGTTTACTACGGGAGGA^{ACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCT}
 CAGTCACCGTCTCCTC^{Agccaaaacaacacccccatcagtctatccactggcccctaagggc}

5 A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos (155 aa) de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 de ratón (SEQ ID NO: 59). Las letras mayúsculas muestran la secuencia de región variable VH de 13G5-57 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig de ratón. La parte subrayada significa la secuencia señal y la parte con doble subrayado significa la región CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

MMSSAQFLGLLLLLCFQGRCDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK
 PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGG
 GTKLEIKradaaptvsifpps^{cqltsggasvvcf}

La CDR1 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 es RASQDISNYLN (SEQ ID NO: 60), la CDR2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 es YTSRLHS (SEQ ID NO: 61) y la CDR3 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 es QQGNTLPY (SEQ ID NO: 62).

10 A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico (458 pb) de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 de ratón anti-PTPRS (SEQ ID NO: 63). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 22H8-84 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 de ratón.

ATGGAATGTA^{ACTGGATACTTCCTTTTATTCTGTCAGTAACTTCAGGTGTCTACTCACA}
 GGTTCAGCTCCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTGGCAAGACCTGGGGCTTCAGTGAAGT
 TGTCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTACTAGCTACTGGATGCAGTGGGTAAAACA
 GAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGGGCTATTTATCCTGGAGATGGTGATACT
 AGGTACACTCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGCAGATAAATCCTCCAGC
 ACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCTTGGCATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTG
 CAAGAAGGATTTACTACGGCTATTACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTC
 AGTCACCGTCTCCTC^{agccaaaacgacacccccatctgtctatccactggcccc}

15 A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos (152 aa) de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 de ratón (SEQ ID NO: 64). Las letras mayúsculas muestran la secuencia de región variable VH y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 de ratón. La parte subrayada significa la secuencia señal y la parte con doble subrayado significa la región CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

MECNWILPFILSVTSGVYSQVQLQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYWMQWVKQ
 RPGQGLEWIGAIYPGDGDTRYTQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYCAR
RIYYGYYYAMDYWGQGTSVTVSSaktppsvypla

20 La CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 es SYWMQ (SEQ ID NO: 65), la CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 es AIYPGDGDTRYTQKFKG (SEQ ID NO: 66) y la CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 es RIYYGYYYAMDY (SEQ ID NO: 67).

A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico (430 pb) de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 de ratón anti-PTPRS obtenido (SEQ ID NO: 68). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 22H8-84 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig de ratón.

ATGGAGACAGACACAATCCTGCTATGGGTGCTGCTGCTCTGGGTTCCAGGCTCCACT
GGTGACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGG
CCACCATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAAGTGTTGATTATGATGGTGATAGTTATATGAA
CTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTATGCTGCATCCAA
TCTAGAATCTGGGATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAC
CCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCAAAG
TAATGAGGATCCTCTCACGTTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA^{acgggctgatgctg}
^{caccaactgtatccatcaagggcg}

- 5 A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos (143 aa) de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 de ratón (SEQ ID NO: 69). Las letras mayúsculas muestran la secuencia de región variable VH de 22H8-84 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig de ratón. La parte subrayada significa la secuencia señal y la parte con doble subrayado significa la región CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

METDTILLWVLLLWVPGSTGDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGD^{SYMNW}
YQKPGQPPKLLIYAASNLESGIPARFSGSGSDFTLNHPVEEEDAATYYCQQSNEDPL
TFGAGTKLELK^{radaaptvsikg}

La CDR1 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 es KASQSVDYDGD^{SYMN} (SEQ ID NO: 70), la CDR2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 es AASNLES (SEQ ID NO: 71) y la CDR3 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 es QQS^{NEDPL} (SEQ ID NO: 72).

- 10 A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 de ratón anti-PTPRS (469 pb) (SEQ ID NO: 25). Las letras mayúsculas muestran la región variable del VH de 49F2-30 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 de ratón.

ATGAACTTCGGGCTCAGGTTGATTTTCCCTTGCCCTCATTTTAAAAGGTGTCCAGTGTG
AGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAA
CTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAATTTTCAGTAGCTATGGCATGTCTTGGGTTCCGCC
AGACTCCAGACAAGAGGCTGGAGTGGGTCGCAACCATTAGTAGTGGTGGTAGTGAC
ACCTATTATCCAGACAGTGTGAAGGGGCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAA
CAACACCCTGTACCTGCAAATGAGCAGTCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATT
ACTGTGCAAGACAGGTCTACTATGGTCTTTACTGGTATTTTCGATGTCTGGGGCGCAG
GGACCACGGTCACCGTCTCCTCA^{gcca^{aaacgacacccccatctgtctatccactggcccctaagggcgaat}}

- 15 A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 de ratón (156 aa) (SEQ ID NO: 26). Las letras mayúsculas muestran el gen variable VH y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 de ratón. Las secuencias subrayadas muestran las secuencias señal y las secuencias con doble subrayado muestran las regiones CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

MNFGRLRLIFLALILKGVQCEVQLVESGGDLVKPGGSLKLSAASGFIFSSYGMSWVRQTPDKRLEWVATISSGSDTYYP
DSVKGRFTISRDNANNTLYLQMSSLKSEDTAMYCARQVYYGLYWFYFDVWGAGTTVTVSS ^{akttpsvyplapke}

- 20 La CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 es SYGMS (SEQ ID NO: 27), la CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 es TISSGSDTYYPDSVKG (SEQ ID NO: 28) y la CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 es QVYYGEYWFYFDV (SEQ ID NO: 29).

A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 de ratón anti-PTPRS obtenido (413 pb) (SEQ ID NO: 30). Las letras mayúsculas muestran la región variable del VL de 49F2-30 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig de ratón.

ATGGAGTCACAGATTCAGGTCTTTGTATTTCGTGTTTCTCTGGTTGTCTGGTGTGACG
 GAGACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGG
 GTCAGCATCATTGTAAGGCCAGTCAGGATGTGAATACTGCTGTAGCCTGGTATCAA
 CAGAAACCAGGACAATCTCCTAAATTACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACACT
 GGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACTTTACCATC
 AGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAATTTATTACTGTCAGCAACATTATAGTACT
 CCGTACACGTTCTGGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAAcgggctgatgctgcaccaactgtatcc
 atcaa

A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 de ratón (137 aa) (SEQ ID NO: 31). Las letras mayúsculas muestran la región variable VL de 49F2-30 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera **k** de ratón.

- 5 Las secuencias subrayadas muestran las secuencias señal y las secuencias con doble subrayado muestran las regiones CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

MESQIQVVFVFLWLSGVDGDIVMTQSHKFMSTSVGDRVSIICKASQDVNTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPD
RFTGSGSGTDFFTISSVQAEDLAIYYCQQHYSTPYTFGGGTKLEIK radaaptvsi

- 10 La CDR1 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 es KASQDVNTAVA (SEQ ID NO: 32), la CDR2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 es SASYRYT (SEQ ID NO: 33) y la CDR3 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 es QQHYSTP (SEQ ID NO: 34).

3. Preparación del vector de expresión del anticuerpo quimerizado

3-1) Clonación de ADNc que codifica la región constante de Ig humana

- 15 Los ADNc de una región constante de cadena pesada de IgG1 humana y una región constante de cadena ligera **k** de Ig humana se clonaron a partir del ARN total de PBMC humanas y cada uno se clonó en el vector pCR4Blunt-TOPO y se introdujo en una célula competente de *E. coli* usando un equipo disponible en el mercado "equipo de clonación de PCR Zero Blunt TOPO" (Invitrogen, n.º de catálogo: 1325137) según las instrucciones adjuntas al equipo para proporcionar un transformante de *E. coli*. Se obtuvo el plásmido mencionado anteriormente de este transformante y se envió una muestra de ADN plasmídico a Operon Biotechnology Co. (Tokio) para análisis de secuencia para confirmar la secuencia de bases de ADNc en el plásmido.

- 20 3-2) Preparación del vector de expresión del anticuerpo 9H5-4 (10F7-38, 14A8-85) quimerizado

- 25 Para preparar un ADNc que codificara una cadena pesada de un anticuerpo de PTPRS quimerizado, la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 de ratón obtenida en 2-2 y el vector pEE6.4 (Lonza Biologies, Slough, Reino Unido) en el que se incorporó la región constante de cadena pesada de IgG humana se habían fusionado y la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 de ratón se amplificó por el método de PCR y se obtuvo el producto de PCR que tenía una longitud de aproximadamente 450 bases. En ese momento, los cebadores fueron los siguientes. El producto de PCR obtenido se purificó mediante un proceso de agarosa de punto de fusión bajo al 1,5 %.

El cebador para expresar la cadena pesada en el anticuerpo quimérico 9H5-4

1) cebador directo: chi10F7VH-IF(Hind3)

Secuencia: 5' ttt AAG CTT gcc gcc acc ATG GAG TTG GGA CTG AGC TGG 3' (39 unidades) (SEQ ID NO: 73)

- 30 2) cebador inverso: chi10F7VH-462R(ApaI)

Secuencia: 5' cga tgg gcc ctt ggt gct agc TGA GGA GAC TGT GAG AGT GGT 3' (42 unidades) (SEQ ID NO: 74)

- 35 "Se obtuvo un producto de PCR que codificaba la región variable de cadena pesada de 9H5-4" a partir de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 de ratón obtenida en 2-2 por el proceso de PCR. El producto de PCR que codificaba la región variable de cadena pesada de 9H5-4 se digirió con Hind III y una enzima de restricción Apa I y se purificó mediante un proceso de gel de agarosa al 1,5 %. Este se disolvió mediante ddH₂O para proporcionar una solución de un fragmento de ADNc que codificara la región variable de cadena pesada.

- 40 La región codificante de V_H del 9H5-4 del ADNc obtenido se amplificó mediante PCR a partir de un clon de plásmido pCR4Blunt-TOPO que incluye la región codificante de V_H del 9H5-4, mediante el uso de los cebadores chi10F7VH-IF (Hind3) y chi10F7VH-462R (ApaI) en los que se habían introducido sitios de restricción preferibles para clonar en un vector pEE6.4 (Lonza Biologies, Slough, Reino Unido) (Hind III y ApaI) y una secuencia Kozak ideal (GCCGCCACC)

- usando Hind III y Apal como sitios de clonación. El vector chi9H5-4VH-pEE6.4 incluye una región constante de cadena pesada de IgG1 humana. El fragmento de PCR de V_H se insertó en el vector pEE6.4 en marco usando Hind III y Apal. La construcción se investigó mediante un análisis de secuencia de bases de ADNc y se envió una muestra de ADN plasmídico a Operon Biotechnology Co., Ltd. (Tokio) para análisis de secuencia para confirmar la secuencia de bases de ADNc en el plásmido.
- 5 Para preparar un ADNc que codificara una cadena ligera de un anticuerpo 9H5-4 quimerizado, el producto de PCR se amplificó en una longitud de aproximadamente 730 bases mediante una técnica basada en PCR de extensión solapante del fragmento de PCR en el que se habían fusionado la región variable de cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 de ratón obtenida en 2-3 y la región constante de cadena ligera k de Ig humana obtenida en 3-2.
- 10 El producto de PCR que codificaba la región variable de cadena ligera de 9H5-4 se digirió con Hind III y una enzima de restricción EcoRI y se purificó mediante un proceso de gel de agarosa al 1,5 %. Este se disolvió en ddH₂O para proporcionar una solución de un fragmento de ADNc que codifique la región variable de cadena ligera.
- 15 El ADNc codificante de VL obtenido de 9H5-4 se amplificó mediante PCR a partir de un clon de plásmido pCR4Blunt-TOPO que incluye la región V_L del 9H5-4 usando los cebadores chil 1G9VL-IF (Hind) y chil 1G9VL-726R (RI) en los que se habían introducido sitios de restricción preferibles (Hind III y EcoRI) para clonar en un vector pEE14.4 (Lonza Biologies) y una secuencia Kozak ideal. El vector Chi9H5-4VL-pEE14.4 incluye una región constante de cadena ligera kappa. El fragmento de PCR de V_L se insertó en el vector pEE14.4 en marco usando Hind III y EcoRI. La construcción se investigó mediante un análisis de secuencia de bases de ADNc.
- El cebador para expresar la cadena ligera en el anticuerpo quimérico 9H5-4
- 20 1) Cebador directo: chi 11G9VL-IF(Hind)
- Secuencia: 5' acc AAG CTT gcc gcc acc ATG ATG TCC TCT GCT CAG TTC 3' (39 unidades) (SEQ ID NO: 75)
- 2) cebador inverso: chi11G9VL-408R
- Secuencia: 5' agc cac agt tcg TTT GAT TTC CAG CTT GGT GCC 3' (33 unidades) (SEQ ID NO: 76)
- 3) Cebador directo: chi11G9VL-385F
- 25 Secuencia: 5' CTG GAA ATC AAA cga act gtg gct gca cca tct 3' (33 unidades) (SEQ ID NO: 77)
- 4) cebador inverso: chil 1G9VL-726R(RI)
- Secuencia: 5' aaa GAATTC cta gca ctc tcc cct gtt gaa 3' (30 unidades) (SEQ ID NO: 78)
- 3-2) Preparación del vector de expresión del anticuerpo 13G5-57 (13G5-52) quimerizado
- 30 Para preparar un ADNc que codifique una cadena pesada de un anticuerpo de PTPRS quimerizado, la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 de ratón obtenida en 2-2 y el vector pEE6.4 (Lonza Biologies, Slough, Reino Unido) en el que se incorporó la región constante de cadena pesada de IgG humana se habían fusionado. En un método similar al anticuerpo 9H5-4, se obtuvo y se purificó el producto de PCR. En ese momento, los cebadores fueron los siguientes.
- El cebador para expresar la cadena pesada en el anticuerpo quimérico 13G5-57
- 35 1) cebador directo: chi13G5.57VH-IF(Hind3)
- Secuencia: 5' ttt AAG CTT gcc gcc acc ATG AAC TTG GGG CTC AGC TTG 3' (39 unidades) (SEQ ID NO: 79)
- 2) cebador inverso: chil3G5.57VH-456R(Apal)
- Secuencia: 5' cga tgg gcc ctt ggt gct agc TGA GGA GAC GGT GAC TGA GGT 3' (42 unidades) (SEQ ID NO: 80)
- 40 Para preparar un ADNc que codifique una cadena ligera de un anticuerpo 13G5-57 quimerizado, el producto de PCR se amplificó en una longitud de aproximadamente 730 bases mediante una técnica basada en PCR de extensión solapante del fragmento de PCR en el que se habían fusionado la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 de ratón obtenida en 2-3 y la región constante de cadena ligera k de Ig humana obtenida en 3-2.
- El cebador para expresar la cadena ligera en el anticuerpo quimérico 13G5-57
- 1) Cebador directo: chi11G9VL-IF (Hind)
- 45 Secuencia: 5' acc AAG CTT gcc gcc acc ATG ATG TCC TCT GCT CAG TTC 3' (39 unidades) (SEQ ID NO: 81)

2) cebador inverso: chi11G9VL-408R

Secuencia: 5' agc cac agt tcg TTT GAT TTC CAG CTT GGT GCC 3' (33 unidades) (SEQ ID NO: 82)

3) Cebador directo: chi11G9VL-385F

Secuencia: 5' CTG GAA ATC AAA cga act gtg gct gca cca tct 3' (33 unidades) (SEQ ID NO: 83)

5 4) cebador inverso: chi11G9VL-726R(RI)

Secuencia: 5' aaa GAA TTC cta gca ctc tcc cct gtt gaa 3' (30 unidades) (SEQ ID NO: 84)

De manera similar a la preparación de vectores de expresión del anticuerpo 9H5-4 quimerizado, se prepararon vectores de expresión para dicha cadena pesada y cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 quimerizado.

3-2) Preparación del vector de expresión del anticuerpo 22H8-84 quimerizado

10 Para preparar un ADNc que codifique una cadena pesada de un anticuerpo de PTPRS quimerizado, la región variable de cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 de ratón obtenida en 2-2 y el vector pEE6.4 (Lonza Biologies, Slough, Reino Unido) en el que se incorporó la región constante de cadena pesada de IgG humana se habían fusionado. En un método similar al anticuerpo 9H5-4, se obtuvo y se purificó el producto de PCR. En ese momento, los cebadores fueron los siguientes.

15 El cebador para expresar la cadena pesada en el anticuerpo quimérico 22H8-84

1) cebador directo: chi22H8VH-IF(Hind3)

Secuencia: 5' ttt AAG CTT gcc gcc acc ATG GAATGT AAC TGG ATA CTT 3' (39 unidades) (SEQ ID NO: 85)

2) cebador inverso: chi22H8VH -456R(ApaI)

Secuencia: 5' cga tgg gcc ctt ggt gct agc TGA GGA GAC GGT GAC TGA GGT 3' (42 unidades) (SEQ ID NO: 86)

20 Para preparar un ADNc que codifique una cadena ligera de un anticuerpo 22H8-84 quimerizado, el producto de PCR se amplificó en una longitud de aproximadamente 730 bases mediante una técnica basada en PCR de extensión solapante del fragmento de PCR en el que se habían fusionado la región variable de cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 de ratón obtenida en 2-3 y la región constante de cadena ligera **k** de Ig humana obtenida en 3-2.

El cebador para expresar la cadena ligera en el anticuerpo quimérico 22H8-84

25 1) Cebador directo: chi22H8VL-IF(Hind)

Secuencia: 5' acc AAG CTT gcc gcc acc ATG GAG ACA GAC ACA ATC CTG 3' (39 unidades) (SEQ ID NO: 87)

2) cebador inverso: chi22H8VL-420R

Secuencia: 5' agc cac agt tcg TTT CAG CTC CAG CTT GGT CCC 3' (33 unidades) (SEQ ID NO: 88)

3) Cebador directo: chi22H8VL-397F

30 Secuencia: 5' CTG GAG CTG AAA cga act gtg gct gca cca tct 3' (33 unidades) (SEQ ID NO: 89)

4) cebador inverso: chi49F2VL-726R(RI)

Secuencia: 5' aaa GAA TTC cta gca ctc tcc cct gtt gaa 3' (30 unidades) (SEQ ID NO: 90)

De manera similar a la preparación de vectores de expresión del anticuerpo 9H5-4 quimerizado, se prepararon vectores de expresión para dicha cadena pesada y cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 quimerizado.

35 3-2) Preparación de ADNc que codifica la cadena pesada del anticuerpo de PTPRS quimerizado

40 Para preparar un ADNc que codifique una cadena pesada de un anticuerpo de PTPRS quimerizado, los dos fragmentos de PCR se alteraron mediante un procedimiento basado en un proceso de PCR de extensión solapante en un fragmento de PCR en el que se habían fusionado la región variable de cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 de ratón obtenida en 2-2 y la región constante de cadena pesada de IgG humana obtenida en 3-1, y el producto de PCR se amplificó en una longitud de 1434 bases mediante un método que permite la formación parcial de una molécula de doble filamento como resultado de una operación híbrida. En ese momento, los cebadores (SEQ ID NO: 17 a 24) fueron los que se muestran en la tabla 1. El producto de PCR obtenido se purificó mediante un proceso de agarosa de punto de fusión bajo al 1,5 %.

Tabla 1

Nombre del cebador		Secuencia
Cebador para expresar la cadena pesada en el anticuerpo quimérico 49F2-30		
1)	chi49F2VH-IF(Hind3)	5' acc AAG CTT gcc gcc acc ATG AAC TTC GGG CTC AGG TTG 3' (39 unidades)
2)	chi49F2VH-447R	5' ctt ggt gct agc TGA GGA GAC GGT GAC CGT GGT 3' (33 unidades)
3)	chi49F2VH-424F	5' ACC GTC TCC TCA gct agc acc aag ggc cca tcg 3' (33 unidades)
4)	chi49F2VH-1434R(RI)	5' ttt GAA TTC tca ttt acc cg gaga cag gga 3' (30 unidades)
Cebador para expresar la cadena ligera en el anticuerpo quimérico 49F2-30		
5)	chi49F2VL-IF(Hind)	5' acc AAG CTT gcc gcc acc ATG GAG TCA CAG ATT CAG GTC 3' (33 unidades)
6)	chi49F2VL-408R	5' agc cac agt tcg TTT TAT TTC CAG CTT GGT CCC 3' (33 unidades)
7)	chi49F2VL-385F	5' CTG GAA ATA AAA cga act gtg gct gca cca tct 3' (33 unidades)
8)	chi49F2VL-726R(RI)	5' aaa GAA TTC cta gca ctc tcc cct gtt gaa 3' (30 unidades)

- 5 Hay una región en la que el ADNc solapa con la región variable de cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 de ratón obtenida en 2-2 y la región constante de cadena pesada de IgG1 humana obtenida en 3-1. Por lo tanto, usando esta región, se obtuvo "un producto de PCR que codifica la región variable de cadena pesada 49F2-30" mediante un proceso de PCR de extensión solapante. El producto de PCR que codifica la región variable de cadena pesada de 49F2-30 se digirió con Hind III y una enzima de restricción EcoRI y se purificó mediante un proceso de gel de agarosa al 1,5 %. Este se disolvió mediante ddH₂O para proporcionar una solución de un fragmento de ADNc que codifica la región variable de cadena pesada.
- 10 La región codificante de V_H del 49F2-30 del ADNc obtenido se amplificó mediante PCR a partir de un clon de plásmido pCR4Blunt-TOPO que incluye la región codificante de V_H del 49F2-30, mediante el uso de los cebadores chi49F2VH-IF (Hind3) y chi49F2VH-1434R (R1) en los que se habían introducido sitios de restricción preferibles para clonar en un vector pEE6.4 (Lonza Biologies, Slough, Reino Unido) (Hind III y EcoRI) y una secuencia Kozak ideal (GCCGCCACC) usando Hind III y EcoRI como sitios de clonación. El vector chi49F2VH-pEE6.4 incluye una región constante de cadena pesada de IgG1 humana. El fragmento de PCR de V_H se insertó en el vector pEE6.4 en marco usando Hind III y EcoRI. La construcción se investigó mediante un análisis de secuencia de bases de ADNc.
- 15 3-3) Preparación de ADNc que codifica la cadena ligera del anticuerpo de PTPRS quimerizado
- 20 Para preparar un ADNc que codifique una cadena ligera de un anticuerpo de PTPRS quimerizado, el producto de PCR se amplificó en una longitud de 726 bases mediante una técnica basada en PCR de extensión solapante del fragmento de PCR en el que se habían fusionado la región variable de cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 de ratón obtenida en 2-3 y la región constante de cadena ligera k de Ig humana obtenida en 3-2.
- El producto de PCR que codifica la región variable de cadena ligera de 49F2-30 se digirió con Hind III y una enzima de restricción EcoRI y se purificó mediante un proceso de gel de agarosa al 1,5 %. Este se disolvió en ddH₂O para proporcionar una solución de un fragmento de ADNc que codifique la región variable de cadena ligera.
- 25 El ADNc codificante de V_L obtenido de 49F2-30 se amplificó mediante PCR a partir de un clon de plásmido pCR4Blunt-TOPO que incluye la región V_L del 49F2-30 usando los cebadores chi49F2VL-IF (Hind) y chi 49F2VL-726R (RI) en los que se habían introducido sitios de restricción preferibles (Hind III y EcoRI) para clonar en un vector pEE14.4 (Lonza Biologies) y una secuencia Kozak ideal. El vector Chi49F2VL-pEE14.4 incluye una región constante de cadena ligera kappa. El fragmento de PCR de V_L se insertó en el vector pEE14.4 en marco usando Hind III y EcoRI. La construcción se investigó mediante un análisis de secuencia de bases de ADNc.
- 30

3-4) Construcción del vector de expresión Lonza de doble gen del anticuerpo de PTPRS quimerizado

Un vector de expresión Lonza del anticuerpo de PTPRS quimerizado (doble gen) en el que el vector que expresa la cadena pesada del anticuerpo de PTPRS quimerizado y el vector que expresa la cadena ligera del anticuerpo de PTPRS quimerizado se habían combinado en un vector de doble gen se construyó mediante una tecnología de clonación convencional.

5

4. Expresión transitoria en la célula HEK-293F

Se usaron los siguientes ADN de vectores de expresión transitorios (80 µg).

1) ADN del vector Lonza chi9H5-4VH/VL DG

2) ADN del vector Lonza chi13G5-57VH/VL DG

10 3) ADN del vector Lonza chi22H8-84VH/VL DG

4) ADN del vector Lonza chi49F2-30VH/VL DG

El día anterior de transfección, una célula 293F se ajustó a 80 ml a 8×10^5 células/ml en un matraz de Erlenmeyer de 250 ml (Coming n.º 431144) y se cultivó agitando en condiciones de 37 °C y una concentración de CO₂ del 8 % durante 7 días.

15 Después del cultivo durante 7 días, se recogió un líquido de cultivo de una célula 293F que se había sometido a transfección en un tubo de 50 ml y se centrifugó en condiciones de 2.070 g y 4 °C durante 5 minutos. El sobrenadante se filtró mediante un filtro de jeringa (n.º de catálogo 431220; CORNING) que tiene un tamaño de poro de 0,45 µm y se reunieron los sobrenadantes de cultivo.

5. Purificación del anticuerpo quimerizado anti-PTPRS

20 Los anticuerpos 9H5-4, 13G5-57, 22H8-84 y 49F2-30 quimerizados se purificaron mediante cromatografía de afinidad de proteína A. El líquido de anticuerpo en bruto obtenido en 4 se purificó cada uno mediante una columna de afinidad de proteína A (rProteína A Sepharose Fast Flow (n.º de catálogo 17-1279-01; Fot. 311272; GE Healthcare). Las condiciones de la columna son las siguientes. Se realizó purificación por afinidad usando un tampón de unión (fosfato de sodio 20 mM, NaCl 0,15 M, pH 7,4) y un tampón de elución (glicina-HCl 0,1 M, pH 2,7). El pH de la fracción eluida se ajustó a aproximadamente 7,2 mediante la adición de un tampón neutralizante (Tris-HCl 1 M, pH 9,5). Para sustituir el tampón del anticuerpo purificado con PBS, el tampón se reemplazó usando la unidad de diálisis Slide-A-Fyzer MINI de PCPM 10k.

25

La concentración del anticuerpo purificado se calculó midiendo la absorbancia a 280 nm y definiendo 1 mg/1 como 1,38 DO.

30 El anticuerpo quimerizado anti-PTPRS purificado (ch9H5-4Ab, ch13G5-57Ab, ch22H8-84Ab y ch49F2-30Ab) se analizó mediante SDS-PAGE y un proceso de citometría de flujo.

Las secuencias de ácido nucleico y secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y la cadena ligera del anticuerpo quimérico 9H5-4 preparado están representadas respectivamente por los siguientes números de secuencia.

Cadena pesada	Cadena ligera
SEQ ID NO: 91	SEQ ID NO: 93
(secuencia de ácido nucleico)	(secuencia de ácido nucleico)
SEQ ID NO: 92	SEQ ID NO: 94
(secuencia de aminoácidos)	(secuencia de aminoácidos)

35 A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada del anticuerpo quimérico 9H5-4 anti-PTPRS (1419 pb) (SEQ ID NO: 91). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 9H5-4 quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 humano.

ATGGAGTTGGGACTGAGCTGGGTATTTCTTGTGGCTCTTTTGAATGGTGTCCAGTGTC
 AGGTGCAGCTTGTAGAGACCGGGGGAGGCTTGGTGAGGCCTGGAAATTCTCTGAAA
 CTCTCCTGTGTTACCTCGGGATTCACTTTCAGTAACTACCGGATGCACTGGCTTCGCC
 AGCCTCCAGGGAAGAGGCTGGAGTGGATTGCTGTAATTACAGTCAAATCTGATAATTA
 TGGAGCAAATTATGCAGAGTCTGTGAAAGGCAGATTCACTATTTCAAGAGATGATTCA
 AAAAGCAGTGTCTACCTGCAGATGAACAGATTAAGAGAGGAAGACACTGCCACTTAT
 TATTGTAGTAGATCGGTCTACTATGGTTACGTCCTAGCCTTTGACTACTGGGGCCAAGG
 CACCACTCTCACAGTCTCTCAgctagcaccgaagggcccatcggtcttccccctggcaccctctccaagagcacc
 tgggggcacagcggccctgggctgcctggcaaggactactccccgaaccggtgacgggtgctggtggaactcaggcgcctgaccagc
 ggcgtgcacacctccccggtgctctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctcagcagcttgggcacc
 agacctacatctgcaactgcaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagtgagcccaaatcttggacaaaactcacat
 gcccaccgtgccagcactgaactcctggggggaccgtcagttctcttcccccaaaaccaaggacaccctcatgatctccggac
 ccctgaggtcacatgctggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcata
 atgccaagacaaagccgcccggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtctcaccgtcctgcaccaggactggtgcaat
 ggcaaggagtacaagtcaaggtctcaacaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcaaaagccaaagggcagccccgag
 aaccacaggtgtacacctgccccatccccggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaaaggctctatcca
 gcgacatgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcct
 cttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaac
 cactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaatga

A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo quimérico 9H5-4 anti-PTPRS (472 aa) (SEQ ID NO: 92). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 9H5-4 quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 humano.

MELGLSWVFLVALLNGVQCQVQLVETGGGLVRPGNSLKLSCVTSFGTFFSNYRMHWLRQ
 PPGKRLEWIAVITVKSDNYGANYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNRLREEDTATYYCS
 RSVYYGYVLAFDYWQGTTTLTVSSastkgpsvflapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtf
 pavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvcpkscdkthtceppcpapellggpsvflfppkpkdtlmisrtpevt
 cvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgppre
 pqvytlppsrldltnqvsitclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealh
 nhytqkslslspgk

5

A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena ligera del anticuerpo quimérico 9H5-4 anti-PTPRS (705 pb) (SEQ ID NO: 93). Las letras mayúsculas muestran la región variable VL de 9H5-4 quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig humana.

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATG
 TGATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTC
 ACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGA
 AACCAGATGGAACGTGTTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGT
 CCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAAC
 CTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTGGA
 CGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAATCAA A c g a a c t g t g g c t g c a c c a t c t g t t c t c a t c t c c c g c c a t c t
 g a t g a g c a g t t g a a a t c t g g a a c t g c c t c t g t t g t g t g c c t g e t g a a t a a c t t e t a t c c c a g a g a g g c c a a a g t a c a g t g g a a g g t g g a t a a c
 g c c c t c c a a t c g g g t a a c t c c c a g g a g a g t g t c a c a g a g c a g g a c a g c a a g g a c a g c a c c t a c a g c c t c a g c a g c a c c c t g a c g e t g a
 g c a a a g c a g a c t a c g a g a a c a c a a a g t c t a c g c c t g c g a a g t c a c c c a t c a g g g c c t g a g c t c g c c c g t c a c a a a g a g c t t c a a c a g g
 g g a g a g t g c t a g

A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo quimérico 9H5-4 anti-PTPRS (234 aa) (SEQ ID NO: 94). Las letras mayúsculas muestran la región variable VL de 9H5-4 quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig humana.

MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK
 PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFGG
 GTKLEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfyreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslstltskadye
 5 khkvyacevthqglsspvtksfnrgec

<13G5-57>

Las secuencias de ácido nucleico y secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y la cadena ligera del anticuerpo quimérico 13G5-57 preparado están representadas respectivamente por los siguientes números de secuencia.

Cadena pesada	Cadena ligera
SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 97
(secuencia de ácido nucleico)	(secuencia de ácido nucleico)
SEQ ID NO: 96	SEQ ID NO: 98
(secuencia de aminoácidos)	(secuencia de aminoácidos)

10 A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada del anticuerpo quimérico 13G5-57 anti-PTPRS (1413 pb) (SEQ ID NO: 95). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 13G5-57 quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 humano.

ATGAACTTGGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGTCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTGTG
 AAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAAA
 CTCTCCTGTGCAACCTCTGGATTCACTTTCAGTGACTATTACATGTATTGGGTTCGCCA
 GACTCCAGAGAAGAGGCTGGAGTGGGTTCGCATACATTAGTAATGGTGGTGGTAGCAC
 CTATTATCCAGACACTGTAAAGGGCCGATTACCCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAAC
 ACCCTGTACCTGCAAATGAGCCGTCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTG
 CAAGACATGTTTACTACGGGAGGAACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCT
 CAGTCACCGTCTCCTCAgctagaccaagggccatcggtcttccccctggcacctctccaagagcacctctgggggc
 acagcgccctgggtgcctggcaaggactactccccgaaccggtgacggtgctggaactcaggcgcctgaccagcgcgctgca
 cacctccccggtgctcctacagctcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagctgggcacccagacctaca
 tctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaagttgagcccaaatctgtgacaaaactcacatgcccaccgt
 gccagcacctgaactctggggggaccgtcagcttctcttcccccaaaaccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggt
 cacatgctggtggtggagctgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatccaaga
 caaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtggtcagcgtcctcaccgtctgcaccaggactggtgaaatggcaagga
 gtacaagtgcaaggtctcaacaagccctccagccccatcgagaaaaccatctcaaaagccaaggcagccccgagaaccacag
 gtgtacaccctgccccatccccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgtaaaaggtcttatcccagcgacatcg
 ccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttctctctaca
 gcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgc
 agaagagcctctccctgtctccgggtaaatga

A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo quimérico 13G5-57 anti-PTPRS (470 aa) (SEQ ID NO: 96). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 13G5-57 quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 humano.

MNLGLSLIFLVLVLKGVQCEVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYMYWVRQT
 PEKRLEWVAYISNGGGSTYYPDTVKGRFTISRDNKNTLYLQMSRLKSEDTAMYCAR
 HVYYGRNYAMDYWGQTSVTVSSastkgpsvflapsskstsggtaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtf
 pavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtppcpapellggpsvflfppkpkdtlmsrtpevt
 cvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqpre
 pqvytlppsrldeltnqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealth
 nhytqkslslspgk

5

A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena ligera del anticuerpo quimérico 13G5-57 anti-PTPRS (705 pb) (SEQ ID NO: 97). Las letras mayúsculas muestran la región variable de 13G5-57VL quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig humana.

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATG
 TGATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTC
 ACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGA
 AACCAGATGGAACTGTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGT
 CCCATCAAGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAAC
 CTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACA
 CGTTCCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAAcgaactgtggctgcaccatctgtcttcatctcccgccatc
 tgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaagtacagtggaaggtggataa
 cgcctccaatcgggtaactcccaggagagtgacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctg
 agcaaagcagactacgagaacacaaagtctacgcctgcgaagtccatcagggcctgagctcgcctgcacaaagactcaacag
 gggagagtgctag

A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo quimérico 13G5-57 anti-PTPRS (234 aa) (SEQ ID NO: 98). Las letras mayúsculas muestran la región variable VL de 13G5-57 quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig humana.

MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK
 PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGG
 GTKLEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfyreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqskdstylsstltskadye
 khkvyacevthqglsspvtksfnrgcc

5

Las secuencias de ácido nucleico y secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y la cadena ligera del anticuerpo quimérico 22H8-84 preparado están representadas respectivamente por los siguientes números de secuencia.

Cadena pesada	Cadena ligera
SEQ ID NO: 99	SEQ ID NO: 101
(secuencia de ácido nucleico)	(secuencia de ácido nucleico)
SEQ ID NO: 100	SEQ ID NO: 102
(secuencia de aminoácidos)	(secuencia de aminoácidos)

10 A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada del anticuerpo quimérico 22H8-84 anti-PTPRS (1413 pb) (SEQ ID NO: 99). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 22H8-84 quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 humano.

ATGGAATGTA ACTGGATACTTCCTTTTATTCTGTCAGTAACTTCAGGTGTCTACTCACA
 GGTT CAGCTCCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTGGCAAGACCTGGGGCTTCAGTGAAGT
 TGTCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTACTAGCTACTGGATGCAGTGGGTAAAACA
 GAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGGGCTATTTATCCTGGAGATGGTGATACT
 AGGTACTACTCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGCAGATAAATCCTCCAGC
 ACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCTTGGCATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTG
 CAAGAAGGATTTACTACGGCTATTACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTC
 AGTCACCGTCTCCTCAgctagcaccaggccatcggttctccctggcacctctccaagagcacctctgggggac
 agcggccctgggtgctggtcaaggactactccccgaaccggtagcgggtgctggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcaca
 cctccccggtgctcctacagctcctcaggactctactccctcagcagcgtggtagccctgcccctcagcagcttgggacccagacctacatc
 tgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagtgagcccaaatctgtgacaaaactcacatgccaccgtgc
 ccagcacctgaactctgggggaccgtcagctctctctcccccaaaacccaaggacacctcatgatctcccgaccctgaggtca
 catgctggtggtggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagaca
 aagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtggtgcagcgtcctaccgtcctgcaccaggactggtgaatggcaaggagta
 caagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtg
 tacacctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtaaaaggtctctatcccagcgacatcgcc
 gtggagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgctcccgtgctggactccgacggctccttctctctacagc
 aagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcag
 aagagcctctcctgctccgggtaaatga

A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo quimérico 22H8-84 anti-PTPRS (470 aa) (SEQ ID NO: 100). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 22H8-84 quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 humano.

MECNWILPFILSVTSGVYSQVQLQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYWMQWVKQ
 RPGQGLEWIGAIYPGDGDTRYTQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYCAR
 RIYYGYYYAMDYWGQGTSVTVSSastkgpsvflapsskstsggtaalgclvkdypcpvtvswngaltsgvhtfp
 avlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtppcpapellggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtc
 vvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreccqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapicktiskakgqprep
 qvytlppsrdeitknqvsitclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhn
 hytqkslspsgk

5

A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena ligera del anticuerpo quimérico 22H8-84 anti-PTPRS (717 pb) (SEQ ID NO: 101). Las letras mayúsculas muestran la región variable de 22H8-84VL quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig humana.

ATGGAGACAGACACAATCCTGCTATGGGTGCTGCTGCTCTGGGTTCCAGGCTCCACT
 GGTGACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGG
 CCACCATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAAGTGTGATTATGATGGTGATAGTTATATGAA
 CTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTATGCTGCATCCAA
 TCTAGAATCTGGGATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAC
 CCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCAAAG
 TAATGAGGATCCTCTCACGTTCCGGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA cgaactgtgctg
 caccatctgtctcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgctgctgaataacttctatcccagagagg
 ccaaagtacagtggaaggtggataacgccctcaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcaccta
 cagcctcagcagcacctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacaaaagtctacgctgcgaagtcacccatcagggcctgagct
 cgcccgtcacaagagcttcaacaggggagagtgctag

A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo quimérico 22H8-84 anti-PTPRS (238 aa) (SEQ ID NO: 102). Las letras mayúsculas muestran la región variable VL de 22H8-84 quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig humana.

METDTILLWVLLLWVPGSTGDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYMNW
 YQQKPGQPPKLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPL
 TFGAGTKLELkrtvaapsvfifpssdeqlksgtasvcllnfyreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslstl
 skadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

5

Las secuencias de ácido nucleico y secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y la cadena ligera del anticuerpo quimérico 49F2-30 preparado están representadas respectivamente por los siguientes números de secuencia.

Cadena pesada	Cadena ligera
SEQ ID NO:35	SEQ ID NO:37
(secuencia de ácido nucleico)	(secuencia de ácido nucleico)
SEQ ID NO:36	SEQ ID NO:38
(secuencia de aminoácidos)	(secuencia de aminoácidos)

10 A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada del anticuerpo quimérico 49F2-30 anti-PTPRS (1413 pb) (SEQ ID NO: 35). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 49F2-30 quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 humano.

ATGAAC TTCGGGCTCAGGTTGATTTTCCTTGCCCTCATTTTAAAAGGTGTCCAGTGTG
 AGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAA
 CTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAATTTTCAGTAGCTATGGCATGTCTTGGGTTCCGCC
 AGACTCCAGACAAGAGGCTGGAGTGGGTGCGCAACCATTAGTAGTGGTGGTAGTGAC
 ACCTATTATCCAGACAGTGTGAAGGGGGCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAA
 CAACACCCTGTACCTGCAAATGAGCAGTCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATT
 ACTGTGCAAGACAGGTCTACTATGGTCTTTACTGGTATTTTCGATGTCTGGGGCGCAG
 GGACCACGGTACCGTCTCCTCAgctagcaccaagggeccatcggtcttccccctggcaccctcctcaagagcacc
 tctgggggcacagcggccctgggctgctggtcaaggactactccccgaaccggtgacggtgctggtgaactcaggcggccctgaccag
 cggcgtgcacacctcccggtgctctacagctcaggaactactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacc
 cagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaccaaggtggacaagaaagtgagcccaaatctgtgacaaaactcacat
 gccaccctgcccagcactgaactctggggggaccgtcagcttctctcccccaaaacccaaggacacctcatgatctccggac
 ccctgaggtcacatgctggtggtgacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcata
 atgccaagacaaaagccgctgggagggagcagtacaacagcagctaccgtggtgacgctcctaccctctgaccaggactggtgaa
 ggcaaggagtacaagtgaaggctccaacaaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcaaaagccaaagggcagccccgag
 aaccacaggtgtacacctgccccatccccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgtaaaaggcttctatcca
 gcgacatgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcct
 ctctctacagaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctctcctatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaac
 cactacagcagaagagcctctcctgctccgggtaaatga

A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo quimérico 49F2-30 anti-PTPRS (470 aa) (SEQ ID NO: 36). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 49F2-30 quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 humano.

MNFGRLRLIFLALILKGVQCEVQLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFIFSSYGMSWVRQT
 PDKRLEWVATISSGSDTYYPDSVKGRFTISRDNANNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCAR
 QVYYGLYWFYFDVWGAGTTVTVSSastkgpsvfplapsskstsggtaalgclvkdypfpvptvswngaltsghvht
 pavlqssglyslsvvtvpssslgtqyicnvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtppcpapellggpsvflfppkpkdtlmisrtpcvt
 cvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgpre
 pqvyltppsrldeltnkqvsllclvkgfypsdiavcwsngqpcnnykttppvldsdsfflyskltvdkrsrwqqgnvfscsvmhcalh
 nhytqkslslspgk

5

A continuación, se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena ligera del anticuerpo quimérico 49F2-30 anti-PTPRS (705 pb) (SEQ ID NO: 37). Las letras mayúsculas muestran la región variable VL de 49F2-30 quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig humana.

ATGGAGTCACAGATTCAGGTCTTTGTATTCGTGTTTCTCTGGTTGTCTGGTGTGACG
 GAGACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGG
 GTCAGCATCAATTTGTAAGGCCAGTCAGGATGTGAATACTGCTGTAGCCTGGTATCAA
 CAGAAACCAGGACAATCTCCTAAATTACTGATTTACTCGGCATCTTACCGGTACACT
 GGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACTTTACCATC
 AGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAATTTATTACTGTCAGCAACATTATAGTACT
 CCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAcgaactgtggctgcacctctgtcttcat
 ctcccccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtgg
 aaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgctcacagagcaggacagcaaggacagcactacagcctcagcagca
 ccctgacgctgagcaaaagcagactacgagaaacacaaaagtctacgctgcaagtcacccatcagggcctgagctgccccgtcacaag
 agcttcaacaggggagagtctag

10 A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo quimérico 49F2-30 anti-PTPRS (234 aa) (SEQ ID NO: 38). Las letras mayúsculas muestran la región variable VL de 49F2-30 quimérico y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena ligera k de Ig humana.

MESQIQVFVFLWLSGVDGDIVMTQSHKFMSTSVGDRVSIICKASQDVNTAVAWYQQ
 KPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGTDFFTISSVQAEDLAIYYCQQHYSTPYTFG
 GGTKLEIKrtvaapsvfifppsdclksqtasvvcllnnfyprcakvqwkvdnalqsgnsqcsvtcqdskdstysltsstltskady
 ckhkvyaccvthqlgsspvtksfnrqcc

Ejemplo 6

Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos del anticuerpo quimérico anti-PTPRS humano preparado (ch49F2-30, ch9H5-4, ch13G5-57 y ch22H8-84)

5 Se midió la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (actividad ADCC). La actividad se obtuvo usando la citotoxicidad celular calculada a partir del valor medido de la lactasa deshidrogenasa (LDH) liberada de una célula como índice. Las células mononucleares de sangre periférica humana para ser una célula efectora se purificaron mediante centrifugación por densidad relativa usando HISTOPAQUE-1077. Como una célula para ser una diana, se usó una célula transformada de manera forzosa de un gen de hPTPRS usando CHO (cepa de células de ovario de hámster chino) (2×10^4 /pocillo). Las células efectoras y diana se mezclaron de manera que la proporción de las mismas se convirtió en 10:1, 20:1, 40:1 y 80:1, se añadieron 10 $\mu\text{g/ml}$ de anticuerpo quimérico anti-PTPRS humano preparado (ch49F2-30, ch9H5-4, ch13G5-57 y ch22H8-84) o un anticuerpo de control Synagis, y la mezcla se cultivó durante 4 horas a 37 °C para evaluar el efecto de citotoxicidad celular del anticuerpo. Como resultado, el ch49F2-30, ch9H5-4, ch13G5-57 y ch22H8-84 del anticuerpo quimérico anti-hPTPRS lisaron la célula hPTPRS/CHO de la diana de una manera dependiente del número de células efectoras (FIG. 17A y FIG. 17B). Este resultado mostró que el anticuerpo quimérico anti-PTPRS preparado mostró de manera selectiva la citotoxicidad a las células que expresan PTPRS.

15 Se estudió el efecto del anticuerpo anti-PTPRS sobre pCD. Se aislaron PBMC de sangre periférica humana, se mezclaron con 10 $\mu\text{g/ml}$ de un anticuerpo quimérico anti-PTPRS humano y se cultivaron durante 24 horas. A continuación, se realizó estimulación durante 24 horas con CpG2216 que es un ligando de un receptor de tipo Toll 9 expresado en pCD para inducir la producción de IFN α . 24 h después de la estimulación con CpG, se probó la cantidad de producción de IFN α . Como resultado, la producción de IFN α fue completamente inhibida por el tratamiento del anticuerpo quimérico anti-PTPRS humana preparado (ch49F2-30, ch9H5-4, ch13G5-57 y ch22H8-84) (FIG. 18A). Asimismo, cuando la célula se recogió 6 horas después del tratamiento con ch49F2-30, ch9H5-4, ch13G5-57 y ch22H8-84 y la pCD se confirmó mediante doble tinción con un anticuerpo anti-BDCA2 y un anticuerpo anti-BDCA4, y se descubrió que la población de pCD disminuyó más que en el tratamiento con Synagis del anticuerpo de control (FIG. 18B y FIG. 18C). Estos resultados mostraron que el tratamiento del anticuerpo quimérico anti-PTPRS anuló en consecuencia la producción de IFN α mediante estimulación con CpG2216.

Aplicabilidad industrial

La presente invención proporciona un anticuerpo según las reivindicaciones que reconoce específicamente PTPRS humana y un método para la producción del anticuerpo anti-PTPRS humana.

30 Números de referencia

FERM BP-11356

FERM BP-11357

FERM BP-11358

FERM BP-11359

35 FERM BP-11360

FERM BP-11361

FERM BP-11362

FERM BP-11363

Texto libre del listado de secuencias

40 SEQ ID NO: 3: cebador directo

SEQ ID NO: 4: cebador inverso

SEQ ID NO: 5: cebador directo

SEQ ID NO: 6: cebador inverso

SEQ ID NO: 7: cebador directo

45 SEQ ID NO: 8: cebador inverso

SEQ ID NO: 9: cebador directo

SEQ ID NO: 10: cebador inverso

- SEQ ID NO: 11: cebador antisentido
- SEQ ID NO: 12: cebador de anclaje
- SEQ ID NO: 12: n es desoxiinosina.
- SEQ ID NO: 13: cebador antisentido
- 5 SEQ ID NO: 14: cebador AUAP
- SEQ ID NO: 15: cebador antisentido
- SEQ ID NO: 16: cebador antisentido
- SEQ ID NO: 17: cebador
- SEQ ID NO: 18: cebador
- 10 SEQ ID NO: 19: cebador
- SEQ ID NO: 20: cebador
- SEQ ID NO: 21: cebador
- SEQ ID NO: 22: cebador
- SEQ ID NO: 23: cebador
- 15 SEQ ID NO: 24: cebador
- SEQ ID NO: 35: secuencia de ácido nucleico de cadena pesada del anticuerpo quimérico 49F2-30 anti-PTPRS
- SEQ ID NO: 36: secuencia de aminoácidos de cadena pesada del anticuerpo quimérico 49F2-30 anti-PTPRS
- SEQ ID NO: 37: secuencia de ácido nucleico de cadena ligera del anticuerpo quimérico 49F2-30 anti-PTPRS
- SEQ ID NO: 38: secuencia de aminoácidos de cadena ligera del anticuerpo quimérico 49F2-30 anti-PTPRS
- 20 SEQ ID NO: 39: cebador
- SEQ ID NO: 40: cebador
- SEQ ID NO: 41: cebador
- SEQ ID NO: 42: cebador
- SEQ ID NO: 73: cebador directo
- 25 SEQ ID NO: 74: cebador inverso
- SEQ ID NO: 75: cebador directo
- SEQ ID NO: 76: cebador inverso
- SEQ ID NO: 77: cebador directo
- SEQ ID NO: 78: cebador inverso
- 30 SEQ ID NO: 79: cebador directo
- SEQ ID NO: 80: cebador inverso
- SEQ ID NO: 81: cebador directo
- SEQ ID NO: 82: cebador inverso
- SEQ ID NO: 83: cebador directo
- 35 SEQ ID NO: 84: cebador inverso
- SEQ ID NO: 85: cebador directo
- SEQ ID NO: 86: cebador inverso

SEQ ID NO: 87: cebador directo

SEQ ID NO: 88: cebador inverso

SEQ ID NO: 89: cebador directo

SEQ ID NO: 90: cebador inverso

5 SEQ ID NO: 91: secuencia de ácido nucleico de cadena pesada del anticuerpo quimérico 9H5-4 anti-PTPRS

SEQ ID NO: 92: secuencia de aminoácidos de cadena pesada del anticuerpo quimérico 9H5-4 anti-PTPRS

SEQ ID NO: 93: secuencia de ácido nucleico de cadena ligera del anticuerpo quimérico 9H5-4 anti-PTPRS

SEQ ID NO: 94: secuencia de aminoácidos de cadena ligera del anticuerpo quimérico 9H5-4 anti-PTPRS

SEQ ID NO: 95: secuencia de ácido nucleico de cadena pesada del anticuerpo quimérico 13G5-57 anti-PTPRS

10 SEQ ID NO: 96: secuencia de aminoácidos de cadena pesada del anticuerpo quimérico 13G5-57 anti-PTPRS

SEQ ID NO: 97: secuencia de ácido nucleico de cadena ligera del anticuerpo quimérico 13G5-57 anti-PTPRS

SEQ ID NO: 98: secuencia de aminoácidos de cadena ligera del anticuerpo quimérico 13G5-57 anti-PTPRS

SEQ ID NO: 99: secuencia de ácido nucleico de cadena pesada del anticuerpo quimérico 22H8-84 anti-PTPRS

SEQ ID NO: 100: secuencia de aminoácidos de cadena pesada del anticuerpo quimérico 22H8-84 anti-PTPRS

15 SEQ ID NO: 101: secuencia de ácido nucleico de cadena ligera del anticuerpo quimérico 22H8-84 anti-PTPRS

SEQ ID NO: 102: secuencia de aminoácidos de cadena ligera del anticuerpo quimérico 22H8-84 anti-PTPRS

Listado de secuencias

<110> SBI Biotech Co., Ltd.

<120> ANTICUERPO ANTI-PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASA DE TIPO RECEPTOR HUMANA SIGMA

20 <130> N401443EP

<140> 12722557.1

<141> 27-04-2012

<150> JP 2011-101752

<151> 28-04-2011

25 <160> 102

<170> PatentIn versión 3.4

<210> 1

<211> 1501

<212> PRT

30 <213> Homo sapiens

<220>

<221> PEPTIDO

<222> (1)..(1501)

<400> 1

ES 2 788 183 T3

Met Ala Pro Thr Trp Gly Pro Gly Met Val Ser Val Val Gly Pro Met
 1 5 10 15

Gly Leu Leu Val Val Leu Leu Val Gly Gly Cys Ala Ala Glu Glu Pro
 20 25 30

Pro Arg Phe Ile Lys Glu Pro Lys Asp Gln Ile Gly Val Ser Gly Gly
 35 40 45

Val Ala Ser Phe Val Cys Gln Ala Thr Gly Asp Pro Lys Pro Arg Val
 50 55 60

Thr Trp Asn Lys Lys Gly Lys Lys Val Asn Ser Gln Arg Phe Glu Thr
 65 70 75 80

Ile Glu Phe Asp Glu Ser Ala Gly Ala Val Leu Arg Ile Gln Pro Leu
 85 90 95

Arg Thr Pro Arg Asp Glu Asn Val Tyr Glu Cys Val Ala Gln Asn Ser
 100 105 110

Val Gly Glu Ile Thr Val His Ala Lys Leu Thr Val Leu Arg Glu Asp
 115 120 125

ES 2 788 183 T3

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

Val Val Glu Arg Thr Arg Thr Ala Thr Met Leu Cys Ala Ala Ser Gly
 145 150 155 160

Asn Pro Asp Pro Glu Ile Thr Trp Phe Lys Asp Phe Leu Pro Val Asp
 165 170 175

Pro Ser Ala Ser Asn Gly Arg Ile Lys Gln Leu Arg Ser Gly Ala Leu
 180 185 190

Gln Ile Glu Ser Ser Glu Glu Thr Asp Gln Gly Lys Tyr Glu Cys Val
 195 200 205

Ala Thr Asn Ser Ala Gly Val Arg Tyr Ser Ser Pro Ala Asn Leu Tyr
 210 215 220

Val Arg Val Arg Arg Val Ala Pro Arg Phe Ser Ile Leu Pro Met Ser
 225 230 235 240

His Glu Ile Met Pro Gly Gly Asn Val Asn Ile Thr Cys Val Ala Val
 245 250 255

Gly Ser Pro Met Pro Tyr Val Lys Trp Met Gln Gly Ala Glu Asp Leu
 260 265 270

Thr Pro Glu Asp Asp Met Pro Val Gly Arg Asn Val Leu Glu Leu Thr
 275 280 285

Asp Val Lys Asp Ser Ala Asn Tyr Thr Cys Val Ala Met Ser Ser Leu
 290 295 300

Gly Val Ile Glu Ala Val Ala Gln Ile Thr Val Lys Ser Leu Pro Lys
 305 310 315 320

Ala Pro Gly Thr Pro Met Val Thr Glu Asn Thr Ala Thr Ser Ile Thr
 325 330 335

Ile Thr Trp Asp Ser Gly Asn Pro Asp Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ile
 340 345 350

Glu Tyr Lys Ser Lys Ser Gln Asp Gly Pro Tyr Gln Ile Lys Glu Asp
 355 360 365

Ile Thr Thr Thr Arg Tyr Ser Ile Gly Gly Leu Ser Pro Asn Ser Glu
 370 375 380

ES 2 788 183 T3

Tyr Glu Ile Trp Val Ser Ala Val Asn Ser Ile Gly Gln Gly Pro Pro
 385 390 395 400
 Ser Glu Ser Val Val Thr Arg Thr Gly Glu Gln Ala Pro Ala Ser Ala
 405 410 415
 Pro Arg Asn Val Gln Ala Arg Met Leu Ser Ala Thr Thr Met Ile Val
 420 425 430
 Gln Trp Glu Glu Pro Val Glu Pro Asn Gly Leu Ile Arg Gly Tyr Arg
 435 440 445
 Val Tyr Tyr Thr Met Glu Pro Glu His Pro Val Gly Asn Trp Gln Lys
 450 455 460
 His Asn Val Asp Asp Ser Leu Leu Thr Thr Val Gly Ser Leu Leu Glu
 465 470 475 480
 Asp Glu Thr Tyr Thr Val Arg Val Leu Ala Phe Thr Ser Val Gly Asp
 485 490 495
 Gly Pro Leu Ser Asp Pro Ile Gln Val Lys Thr Gln Gln Gly Val Pro
 500 505 510
 Gly Gln Pro Met Asn Leu Arg Ala Glu Ala Arg Ser Glu Thr Ser Ile
 515 520 525
 Thr Leu Ser Trp Ser Pro Pro Arg Gln Glu Ser Ile Ile Lys Tyr Glu
 530 535 540
 Leu Leu Phe Arg Glu Gly Asp His Gly Arg Glu Val Gly Arg Thr Phe
 545 550 555 560
 Asp Pro Thr Thr Ser Tyr Val Val Glu Asp Leu Lys Pro Asn Thr Glu
 565 570 575
 Tyr Ala Phe Arg Leu Ala Ala Arg Ser Pro Gln Gly Leu Gly Ala Phe
 580 585 590
 Thr Pro Val Val Arg Gln Arg Thr Leu Gln Ser Ile Ser Pro Lys Asn
 595 600 605
 Phe Lys Val Lys Met Ile Met Lys Thr Ser Val Leu Leu Ser Trp Glu
 610 615 620
 Phe Pro Asp Asn Tyr Asn Ser Pro Thr Pro Tyr Lys Ile Gln Tyr Asn
 625 630 635 640

ES 2 788 183 T3

Gly Leu Thr Leu Asp Val Asp Gly Arg Thr Thr Lys Lys Leu Ile Thr
645 650 655

His Leu Lys Pro His Thr Phe Tyr Asn Phe Val Leu Thr Asn Arg Gly
660 665 670

Ser Ser Leu Gly Gly Leu Gln Gln Thr Val Thr Ala Trp Thr Ala Phe
675 680 685

Asn Leu Leu Asn Gly Lys Pro Ser Val Ala Pro Lys Pro Asp Ala Asp
690 695 700

Gly Phe Ile Met Val Tyr Leu Pro Asp Gly Gln Ser Pro Val Pro Val
705 710 715 720

Gln Ser Tyr Phe Ile Val Met Val Pro Leu Arg Lys Ser Arg Gly Gly
725 730 735

Gln Phe Leu Thr Pro Leu Gly Ser Pro Glu Asp Met Asp Leu Glu Glu
740 745 750

Leu Ile Gln Asp Ile Ser Arg Leu Gln Arg Arg Ser Leu Arg His Ser
755 760 765

Arg Gln Leu Glu Val Pro Arg Pro Tyr Ile Ala Ala Arg Phe Ser Val
770 775 780

Leu Pro Pro Thr Phe His Pro Gly Asp Gln Lys Gln Tyr Gly Gly Phe
785 790 795 800

Asp Asn Arg Gly Leu Glu Pro Gly His Arg Tyr Val Leu Phe Val Leu
805 810 815

Ala Val Leu Gln Lys Ser Glu Pro Thr Phe Ala Ala Ser Pro Phe Ser
820 825 830

Asp Pro Phe Gln Leu Asp Asn Pro Asp Pro Gln Pro Ile Val Asp Gly
835 840 845

Glu Glu Gly Leu Ile Trp Val Ile Gly Pro Val Leu Ala Val Val Phe
850 855 860

Ile Ile Cys Ile Val Ile Ala Ile Leu Leu Tyr Lys Asn Lys Pro Asp
865 870 875 880

Ser Lys Arg Lys Asp Ser Glu Pro Arg Thr Lys Cys Leu Leu Asn Asn

ES 2 788 183 T3

Thr Cys Asn Pro Pro Asp Ala Gly Pro Ile Val Val His Cys Ser
 1130 1135 1140

Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Cys Phe Ile Val Ile Asp Ala Met
 1145 1150 1155

Leu Glu Arg Ile Lys Pro Glu Lys Thr Val Asp Val Tyr Gly His
 1160 1165 1170

Val Thr Leu Met Arg Ser Gln Arg Asn Tyr Met Val Gln Thr Glu
 1175 1180 1185

Asp Gln Tyr Ser Phe Ile His Glu Ala Leu Leu Glu Ala Val Gly
 1190 1195 1200

Cys Gly Asn Thr Glu Val Pro Ala Arg Ser Leu Tyr Ala Tyr Ile
 1205 1210 1215

Gln Lys Leu Ala Gln Val Glu Pro Gly Glu His Val Thr Gly Met
 1220 1225 1230

Glu Leu Glu Phe Lys Arg Leu Ala Asn Ser Lys Ala His Thr Ser
 1235 1240 1245

Arg Phe Ile Ser Ala Asn Leu Pro Cys Asn Lys Phe Lys Asn Arg
 1250 1255 1260

Leu Val Asn Ile Met Pro Tyr Glu Ser Thr Arg Val Cys Leu Gln
 1265 1270 1275

Pro Ile Arg Gly Val Glu Gly Ser Asp Tyr Ile Asn Ala Ser Phe
 1280 1285 1290

Ile Asp Gly Tyr Arg Gln Gln Lys Ala Tyr Ile Ala Thr Gln Gly
 1295 1300 1305

Pro Leu Ala Glu Thr Thr Glu Asp Phe Trp Arg Met Leu Trp Glu
 1310 1315 1320

Asn Asn Ser Thr Ile Val Val Met Leu Thr Lys Leu Arg Glu Met
 1325 1330 1335

Gly Arg Glu Lys Cys His Gln Tyr Trp Pro Ala Glu Arg Ser Ala
 1340 1345 1350

Arg Tyr Gln Tyr Phe Val Val Asp Pro Met Ala Glu Tyr Asn Met
 1355 1360 1365

ES 2 788 183 T3

Pro Gln Tyr Ile Leu Arg Glu Phe Lys Val Thr Asp Ala Arg Asp
 1370 1375 1380

Gly Gln Ser Arg Thr Val Arg Gln Phe Gln Phe Thr Asp Trp Pro
 1385 1390 1395

Glu Gln Gly Val Pro Lys Ser Gly Glu Gly Phe Ile Asp Phe Ile
 1400 1405 1410

Gly Gln Val His Lys Thr Lys Glu Gln Phe Gly Gln Asp Gly Pro
 1415 1420 1425

Ile Ser Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Val Phe
 1430 1435 1440

Ile Thr Leu Ser Ile Val Leu Glu Arg Met Arg Tyr Glu Gly Val
 1445 1450 1455

Val Asp Ile Phe Gln Thr Val Lys Met Leu Arg Thr Gln Arg Pro
 1460 1465 1470

Ala Met Val Gln Thr Glu Asp Glu Tyr Gln Phe Cys Tyr Gln Ala
 1475 1480 1485

Ala Leu Glu Tyr Leu Gly Ser Phe Asp His Tyr Ala Thr
 1490 1495 1500

<210> 2

<211> 4665

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<220>

<221> gen

<222> (1)..(4665)

<300>

10 <301> Strausberg t al.

<302> Generación y análisis inicial de más de 15.000 secuencias de ADNc humano y de ratón de longitud completa

<303> Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.

<304> 99

<305> 26

15 <306> 16899-16903

<307> 2002

<400> 2

gggctcgagg cctctctgtg agggaccggg gggccatccc cctccagggc ggagatcgga 60

ggtcgctgcc aagcatggcg cccacctggg gccctggcat ggtgtctgtg gttggtccca 120

tgggcctcct tgtggtcctg ctcggtggag gctgtgcagc agaagagccc cccaggttta 180

ES 2 788 183 T3

tcaaagaacc caaggaccag atcggcgtgt cgggggggtgt ggcctctttc gtgtgtcagg 240
ccacgggtga cccaagcca cgagtgacct ggaacaagaa gggcaagaag gtcaactctc 300
agcgctttga gacgattgag tttgatgaga gtgcaggggc agtgctgagg atccagccgc 360
tgaggacacc gcgggatgaa aacgtgtacg agtgtgtggc ccagaactcg gttggggaga 420
tcacagtcca tgccaagctt actgtcctcc gagaggacca gctgccctct ggcttcccca 480
acatcgacat gggccacag ttgaaggtgg tggagcggac acggacagcc accatgctct 540
gtgcagccag cggcaaccct gaccctgaga tcacctggtt caaggacttc ctgcctgtgg 600
atcctagtgc cagcaatgga cgcatcaaac agctgcgatc aggagccctg cagattgaaa 660
gcagtgagga aaccgaccag ggcaaatatg agtgtgtggc caccaacagc gccggcgtgc 720
gctactcctc acctgccaac ctctacgtgc gagtccgccg cgtggccccc cgcttctcca 780
tcctgcccat gagccacgag atcatgccag ggggcaacgt gaacatcacc tgcgtggccg 840
tgggctgcc catgccatac gtgaagtgga tgcagggggc cgaggacctg acccccagg 900
atgacatgcc cgtgggtcgg aacgtgctgg aactcacaga tgtcaaggac tcggccaact 960
acacctgcgt ggccatgtcc agcctgggcg tcattgaggc ggttgctcag atcacggtga 1020
aatctctccc caaagctccc gggactccca tgggtactga gaacacagcc accagcatca 1080
ccatcacgtg ggactcgggc aaccagatc ctgtgtccta ttacgtcatc gaatataaat 1140
ccaagagcca agacgggccc tatcagatta aagaggacat caccaccaca cgttacagca 1200
tcggcggcct gagccccaac tcggagtacg agatctgggt gtcggccgtc aactccatcg 1260
gccaggggccc ccccgagcag tccgtggtca cccgcacagg cgagcaggcc cggccagcg 1320
cgccgcggaa cgtgcaagcc cggatgctca gcgcgaccac catgattgtg cagtgggagg 1380
agccgggtga gcccaacggc ctgatccgcg gctaccgct ctactacacc atggaaccgg 1440
agcaccctgt gggcaactgg cagaagcaca acgtggacga cagcctgctg accaccgtgg 1500
gcagcctgct ggaggacgag acctacaccg tgcgggtgct cgccttcacc tccgtcggcg 1560
acgggcccct ctcggacccc atccaggtca agacgcagca gggagtgccg ggccagccca 1620
tgaacctgcg ggccgagccc aggtcggaga ccagcatcac gctgtcctgg agccccccgc 1680
ggcagagag tatcatcaag tacgagctcc tcttccggga agcgcacat ggccgggagg 1740
tgggaaggac cttcgaccgg acgacttctc acgtggtgga ggacctgaag cccaacacgg 1800
agtacgcctt ccgctgcg gcccgtcgc cgcagggcct gggcgccttc acccccgtgg 1860
tgcggcagcg cacgctgcag tccatctcgc ccaagaactt caaggtgaaa atgatcatga 1920
agacatcagt tctgctcagc tgggagttcc ctgacaacta caactcacc acaccctaca 1980
agatccagta caatgggctc aactggatg tggatggccc taccaccaag aagctcatca 2040

ES 2 788 183 T3

cgcacctcaa gccccacacc ttctacaact ttgtgctgac caatcgcggc agcagcctgg 2100
 gcgccctcca gcagacggtc accgcctgga ctgccttcaa cctgctcaac ggcaagccca 2160
 gcgtcgcccc caagcctgat gctgacggct tcatcatggt gtatcttctt gacggccaga 2220
 gccccgtgcc tgtccagagc tatttcattg tgatggtgcc actgcgcaag tctcgtggag 2280
 gccaatctct gaccccgtg ggtagcccag aggacatgga tctggaagag ctcatccagg 2340
 acatctcacg gctacagagg cgcagcctgc ggcactcgcg tcagctggag gtgccccggc 2400
 cctatattgc agctcgcttc tctgtgctgc caccacggtt ccatccccggc gaccagaagc 2460
 agtatggcgg cttcgataac cggggcctgg agcccggcca ccgctatgtc ctcttcgtgc 2520
 ttgccgtgct tcagaagagc gagcctacct ttgcagccag tcccttctca gacccttcc 2580
 agctggataa cccggacccc cagcccacgc tggatggcga ggaggggctt atctgggtga 2640
 tcgggcctgt gctggccgtg gtcttcataa tctgcattgt cattgctatc ctgctctaca 2700
 agaacaaacc cgacagtaaa cgcaaggact cagaaccccg caccaaatgc ctctgaaca 2760
 atgccgacct cgcccctcac caccccaagg accctgtgga aatgagacgc attaaactcc 2820
 agactccagg catgcttagc caccgcgcaa tcccatcgc agacatggcg gagcacacgg 2880
 agcggctcaa ggccaacgac agcctcaagc tctcccagga gtatgagtcc atcgaccctg 2940
 gacagcagtt cacatgggaa cattccaacc tggaaagtga caagccgaag aaccgctatg 3000
 ccaacgtcat cgcctatgac cactcccgtg tcatcctcca gccattgaa ggcacatgag 3060
 gcagtgatta catcaatgcc aactacgtgg acggctaccg gcgtcagaac gcgtacattg 3120
 ccacgcaggg gccgctgcct gagaccttg gggactctct gcgtatggtg tgggagcagc 3180
 ggtcggcgac catcgtcatg atgacgcggc tggaggagaa gtcacggatc aagtgtgatc 3240
 agtattggcc caacagaggc acggagacct acggcttcat ccaggtcacg ttgctagata 3300
 ccatcgagct ggccacattc tgcgtcagga cattctctct gcacaagaat ggctccagtg 3360
 agaaaacgca ggtccgccag ttccagttta cggcgtggcc ggaccatggc gtgcccgaat 3420
 acccaacgcc cttcctggct ttctcgcgga gagtcaagac ctgcaacccg ccagatgccg 3480
 gccccatcgt ggttcaactgc agtgccgggtg tgggccgcac aggtgcttt atcgtcatcg 3540
 acgccatgct tgagcggatc aagccagaga agacagtcga tgtctatggc cacgtgacgc 3600
 tcatgaggtc ccagcgcaac tacatggtgc agacggagga ccagtacagc ttcacccagc 3660
 aggcctgct ggagccgtg ggctgtggca acacagaagt gcccgcacgc agcctctatg 3720
 cctacatcca gaagctggcc caggtggagc ctggcgaaca cgtcactggc atggaactcg 3780
 agttcaagcg gctggttaac tccaaggccc acacgtcacg cttcatcagt gccaatctgc 3840
 cttgtaacaa gttcaagaac cgcctggtga acatcatgcc ctatgagagc acacgggtct 3900
 gtctgcaacc catccggggt gtggagggtc ctgactacat caacgccagc ttcattgatg 3960

ES 2 788 183 T3

	gctacaggca gcagaaggcc tacatcgcga cacaggggcc gctggcggag accacggaag	4020
	acttctggcg catgctgtgg gagaacaatt cgacgatcgt ggtgatgctg accaagctgc	4080
	gggagatggg ccgggagaag tgtcaccagt actggccggc cgagcgtct gcccgtacc	4140
	agtactttgt ggtagatccg atggcagaat acaacatgcc tcagtatatc ctgcgagagt	4200
	tcaaggtcac agatgcccg gatggccagt cccggactgt ccggcagttc cagttcacag	4260
	actggccgga acaggggtgtg ccaaagtccg gggagggtt catcgacttc attggccaag	4320
	tgcataagac taaggagcag tttggccagg acggcccat ctctgtccac tgcagtgccg	4380
	gcgtgggcag gacgggcgtc ttcacacgc ttagcatcgt gctggagcgg atgcggtatg	4440
	aaggcgtggt ggacatcttt cagacggtga agatgctacg aaccagcgg ccggccatgg	4500
	tgcagacaga gtagagtac cagttctgtt accaggcggc actggagtac ctcggaagct	4560
	ttgaccacta tgcaacctaa agccatggtt cccccaggc ccgacaccac tggccccgga	4620
	tgcctctgcc cctcccgggc ggacctcctg aggcctggac cccca	4665
	<210> 3	
	<211> 18	
	<212> ADN	
5	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Cebador directo	
	<400> 3	
	cacggcctat gacctca 18	
10	<210> 4	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
15	<223> Cebador inverso	
	<400> 4	
	aagttcttg gcgagactg 20	
	<210> 5	
	<211> 18	
20	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Cebador directo	
	<400> 5	
25	ccaccatgg caaattcc 18	
	<210> 6	
	<211> 22	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
30	<220>	
	<223> Cebador inverso	
	<400> 6	
	tgggattcc attgatgaca ag 22	
	<210> 7	
35	<211> 21	

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador directo

 5 <400> 7
 actcaccac acctacaag a 21

 <210> 8
 <211> 18
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador inverso

 <400> 8
 cttggtgta cggccatc 18

 15 <210> 9
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <223> Cebador directo

 <400> 9
 aaagaattcg ccgccacat gccgccacc tggggcct 39

 <210> 10
 <211> 34
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador inverso

 <400> 10
 30 aaagcggccg ctaggtgc atagtgta aagc 34

 <210> 11
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 35 <220>
 <223> Cebador antisentido

 <400> 11
 tccagagtc caggtactg tcac 24

 <210> 12
 40 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador de anclaje

 45 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (24)..(25)
 <223> n es desoxiinosina.

 <220>
 50 <221> base_modificada
 <222> (29)..(30)

<223> n es desoxiinosina.
 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (34)..(35)
 5 <223> n es desoxiinosina.
 <400> 12
 gccacgcgt cgactagtac gggnggggnn gggng 36
 <210> 13
 <211> 24
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador antisentido
 <400> 13
 15 aggggccagt ggatagacag atgg 24
 <210> 14
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Cebador AUAP
 <400> 14
 gccacgcgt cgactagtac 20
 <210> 15
 25 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador antisentido
 30 <400> 15
 ttactgcca tcaatctcc actt 24
 <210> 16
 <211> 21
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador antisentido
 <400> 16
 gatggataca gttggtcag c 21
 40 <210> 17
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Cebador
 <400> 17
 accaagcttg ccgccacat gaactcggg ctcagggtg 39
 <210> 18
 <211> 33
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cebador

 <400> 18
 cttggtgcta gctgaggaga cggtgaccgt ggt 33
 5 <210> 19
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 10 <223> Cebador

 <400> 19
 accgtctct cagctagcac caaggccca tcg 33

 <210> 20
 <211> 30
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador

 <400> 20
 20 ttggaattct catttaccg gagacagga 30

 <210> 21
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 25 <220>
 <223> Cebador

 <400> 21
 accaagcttg ccgccacat ggagtcacag attcaggtc 39

 <210> 22
 30 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador

 35 <400> 22
 agccacagtt cgttttattt ccagcttgg ccc 33

 <210> 23
 <211> 33
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador

 <400> 23
 ctggaataa aacgaactgt ggctgcacca tct 33

 45 <210> 24
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 50 <223> Cebador

ES 2 788 183 T3

<400> 24
aaagaattcc tagcactctc cctgttgaa 30

5 <210> 25
<211> 469
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 25
atgaacttcg ggctcagggt gattttcctt gccctcattt taaaagggtg ccagtgtgag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggagactta gtgaagcctg gagggtcctt gaaactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcat tttcagtagc tatggcatgt cttgggttcg ccagactcca 180
gacaagaggc tggagtgggt cgcaaccatt agtagtggtg gtagtgacac ctattatcca 240
gacagtgtga aggggcgatt caccatctcc agagacaatg ccaacaacac cctgtacctg 300
caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acaggtctac 360
tatggtcttt actggtatatt cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca 420
gccaaaaaga caccoccatc tgtctatcca ctggccccta agggcgaat 469

10 <210> 26
<211> 156
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 26
Met Asn Phe Gly Leu Arg Leu Ile Phe Leu Ala Leu Ile Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe
35 40 45

Ser Ser Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Tyr Pro
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Val Tyr Tyr Gly Leu Tyr Trp Tyr Phe Asp
115 120 125

Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr
130 135 140

Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Lys Gly Glu
145 150 155

15 <210> 27

ES 2 788 183 T3

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

 <400> 27
 Ser Tyr Gly Met Ser
 5 1 5

 <210> 28
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

 10 <400> 28
 Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

 Gly

 <210> 29
 <211> 12
 <212> PRT
 15 <213> Mus musculus

 <400> 29
 Gln Val Tyr Tyr Gly Leu Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

 <210> 30
 <211> 413
 <212> ADN
 <213> Mus musculus

 <400> 30
 atggagtcac agattcaggt ctttgtattc gtgtttctct ggttgtctgg tgttgacgga 60
 gacattgtga tgaccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 120
 atcatttgta aggccagtca ggatgtgaat actgctgtag cctggtatca acagaaacca 180
 ggacaatctc ctaaattact gatttactcg gcatcctacc ggtacactgg agtccctgat 240
 cgcttactg gcagtgatc tgggacggat ttcactttca ccatcagcag tgtgcaggct 300
 gaagacctgg caatttatta ctgtcagcaa cattatagta ctccgtacac gttcggaggg 360
 gggaccaagc tggaaataaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat caa 413

 25 <210> 31
 <211> 137
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

 <400> 31

ES 2 788 183 T3

Met Glu Ser Gln Ile Gln Val Phe Val Phe Val Phe Leu Trp Leu Ser
1 5 10 15

Gly Val Asp Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser
20 25 30

Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Ile Cys Lys Ala Ser Gln Asp
35 40 45

Val Asn Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro
50 55 60

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

Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr
100 105 110

Ser Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile
130 135

<210> 32

<211> 11

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 32

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

<210> 33

<211> 7

10 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 33

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
1 5

<210> 34

<211> 7

15 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 34

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro
1 5

20 <210> 35

<211> 1413

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Secuencia de ácido nucleico de cadena pesada del anticuerpo anti PTPRS quimera 49F2-30

<400> 35

ES 2 788 183 T3

atgaacttcg ggctcagggt gattttcctt gccctcattt taaaagggtg ccagtgtgag 60
 gtgcagctgg tggagtctgg gggagactta gtgaagcctg gagggtcctt gaaactctcc 120
 tgtgcagcct ctggattcat ttccagtagc tatggcatgt cttgggttcg ccagactcca 180
 gacaagaggc tggagtgggt cgcaaccatt agtagtggtg gtagtgacac ctattatcca 240
 gacagtgtga aggggcgatt caccatctcc agagacaatg ccaacaacac cctgtacctg 300
 caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acaggtctac 360
 tatggtcttt actggtatth cgatgtctgg ggcgcaggga ccacggtcac cgtctcctca 420
 gctagcacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcacctt cctccaagag cacctctggg 480
 ggcacagcgg ccttgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggg gacgggtgctg 540
 tggaaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcctt acagtcctca 600
 ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 660
 tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 720
 aatcttctg acaaaactca cacatgcccc ccgtgccag cacctgaact cctgggggga 780
 ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaacc aaggacacc tcattgatctc ccggaccctt 840
 gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900
 tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc gcggggagga gcagtacaac 960
 agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020
 gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aacctctcc 1080
 aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggatgag 1140
 ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1260
 ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320
 cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacag 1380
 cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1413

- 5 <210> 36
- <211> 470
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo anti PTPRS quimera 49F2-30
- 10 <400> 36

ES 2 788 183 T3

Met Asn Phe Gly Leu Arg Leu Ile Phe Leu Ala Leu Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys
 20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe
 35 40 45

Ser Ser Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Tyr Pro
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn
 85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Val Tyr Tyr Gly Leu Tyr Trp Tyr Phe Asp
 115 120 125

Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190

ES 2 788 183 T3

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 210 215 220

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 225 230 235 240

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 245 250 255

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 260 265 270

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 275 280 285

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 290 295 300

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 305 310 315 320

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 325 330 335

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 340 345 350

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 355 360 365

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
 370 375 380

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 405 410 415

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 37
 <211> 705
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

ES 2 788 183 T3

<220>

<223> Secuencia de ácido nucleico de cadena ligera del anticuerpo anti PTPRS quimera 49F2-30

<400> 37

```

atggagtcac agattcaggt ctttgtattc gtgtttctct ggttgtctgg tgttgacgga      60
gacatttgta tgaccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc      120
atcatttgta aggccagtca ggatgtgaat actgctgtag cctgggatca acagaaacca      180
ggacaatctc ctaaattact gatttactcg gcatcctacc ggtacactgg agtcctgat      240
cgcttactg gcagtggatc tgggacggat ttcactttca ccatcagcag tgtgcaggct      300
gaagacctgg caatttatta ctgtcagcaa cattatagta ctccgtacac gttcggaggg      360
gggaccaagc tggaataaaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcc      420
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat      480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgcc tccaatcggg taactcccag      540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg      600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc      660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gctag                          705
  
```

5 <210> 38

<211> 234

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo anti PTPRS quimera 49F2-30

<400> 38

```

Met Glu Ser Gln Ile Gln Val Phe Val Phe Val Phe Leu Trp Leu Ser
1           5           10           15
  
```

```

Gly Val Asp Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser
          20           25           30
  
```

```

Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Ile Cys Lys Ala Ser Gln Asp
          35           40           45
  
```

ES 2 788 183 T3

Val Asn Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro
50 55 60

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

Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr
100 105 110

Ser Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 39

<211> 36

<212> ADN

5 <213> Artificial

<220>

<223> cebador

<400> 39

ccaggagagt gggagaggct ctctcagta tggtagg 36

10 <210> 40

<211> 32

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

15 <223> cebador

<400> 40

ggctcagga aatagccctt gaccaggcat cc 32

<210> 41

<211> 24

ES 2 788 183 T3

<212> ADN
 <213> Artificial

 <220>
 <223> cebador

 5 <400> 41
 tccagagttc caagtcacag tcac 24

 <210> 42
 <211> 24
 <212> ADN
 10 <213> Artificial

 <220>
 <223> cebador

 <400> 42
 aggggccagt ggatagactg atgg 24

 15 <210> 43
 <211> 471
 <212> ADN
 <213> Mus musculus

 <400> 43
 atggagttgg gactgagctg ggtatttctt gtggctcttt tgaatggtgt ccagtgtcag 60
 gtgcagcttg tagagaccgg gggaggcttg gtgaggcctg gaaattctct gaaactctcc 120
 tgtgttacct cgggattcac tttcagtaac taccggatgc actggcttcg ccagcctcca 180
 gggaagagggc tggagtggat tgctgtaatt acagtcaaat ctgataatta tggagcaaat 240
 tatgcagagt ctgtgaaagg cagattcact atttcaagag atgattcaaa aagcagtgtc 300
 tacctgcaga tgaacagatt aagagaggaa gacactgccca cttattattg tagtagatcg 360
 gtctactatg gttacgtcct agcctttgac tactggggcc aaggcaccac tctcacagtc 420
 20 tcctcagcca aaacgacacc cccatctgtc tatccactgg cccctaaggg c 471

 <210> 44
 <211> 157
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

 25 <400> 44

ES 2 788 183 T3

Met Glu Leu Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Asn Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Arg
20 25 30

Pro Gly Asn Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Thr Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asn Tyr Arg Met His Trp Leu Arg Gln Pro Pro Gly Lys Arg Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Ala Val Ile Thr Val Lys Ser Asp Asn Tyr Gly Ala Asn
65 70 75 80

Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
85 90 95

Lys Ser Ser Val Tyr Leu Gln Met Asn Arg Leu Arg Glu Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Thr Tyr Tyr Cys Ser Arg Ser Val Tyr Tyr Gly Tyr Val Leu Ala
115 120 125

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys
130 135 140

Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Lys Gly
145 150 155

<210> 45
<211> 5
<212> PRT
5 <213> Mus musculus

<400> 45
Asn Tyr Arg Met His
1 5

10 <210> 46
<211> 19
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 46
Val Ile Thr Val Lys Ser Asp Asn Tyr Gly Ala Asn Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

15 Val Lys Gly
<210> 47
<211> 12
<212> PRT
<213> Mus musculus

20 <400> 47
Ser Val Tyr Tyr Gly Tyr Val Leu Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 48
<211> 402
<212> ADN

ES 2 788 183 T3

<213> Mus musculus

<400> 48

```

atgatgtcct ctgctcagtt ccttggctctc ctgttgctct gttttcaagg taccagatgt      60
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc      120
atcagttgca gggcaagtca ggacattagc aattatttaa actggtatca gcagaaacca      180
gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcaagat tacactcagg agtcccatca      240
aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa      300
gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtggac gttcggtgga      360
ggcaccaagc tggaaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ct                          402
  
```

<210> 49

<211> 134

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 49

```

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
 1          5          10          15
  
```

```

Gly Thr Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser
          20          25          30
  
```

```

Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp
          35          40          45
  
```

```

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val
 50          55          60
  
```

```

Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser
65          70          75          80
  
```

```

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
          85          90          95
  
```

```

Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn
          100          105          110
  
```

```

Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
          115          120          125
  
```

```

Ala Asp Ala Ala Pro Thr
          130
  
```

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 50

```

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

<210> 51

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

ES 2 788 183 T3

<400> 51
 Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
 1 5

<210> 52
 <211> 7
 5 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 52
 Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro
 1 5

10 <210> 53
 <211> 465
 <212> ADN
 <213> Mus musculus

15 <400> 53
 atgaacttgg ggctcagctt gattttcctt gtccttgttt taaaagggtg ccagtgtgaa 60
 gtgaagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggtcctt gaaactctcc 120
 tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgac tattacatgt attgggttcg ccagactcca 180
 gagaagagggc tggagtgggt cgcatacatt agtaatggtg gtggtagcac ctattatcca 240
 gacactgtaa agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg 300
 caaatgagcc gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acatgtttac 360
 tacgggagga actatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca 420
 gccaaaaaaa caccctcatc agtctatcca ctggccccta agggc 465

20 <210> 54
 <211> 155
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 54

ES 2 788 183 T3

Met Asn Leu Gly Leu Ser Leu Ile Phe Leu Val Leu Val Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Tyr Ile Ser Asn Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro
65 70 75 80

Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Arg Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Val Tyr Tyr Gly Arg Asn Tyr Ala Met Asp
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr
130 135 140

Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Lys Gly
145 150 155

<210> 55
<211> 5
<212> PRT
5 <213> Mus musculus

<400> 55
Asp Tyr Tyr Met Tyr
1 5

<210> 56
<211> 17
10 <212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 56
Tyr Ile Ser Asn Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 57
15 <211> 12
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 57
His Val Tyr Tyr Gly Arg Asn Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

20 <210> 58
<211> 465

ES 2 788 183 T3

<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 58
atgaacttgg ggctcagctt gattttcctt gtccttgttt taaaaggtgt ccagtgtaa 60
gtgaagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggccctt gaaactctcc 120
tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgac tattacatgt attgggttcg ccagactcca 180
gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt agtaatgggtg gtggtagcac ctattatcca 240
gacactgtaa agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg 300
caaatgagcc gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acatgtttac 360
tacgggagga actatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca 420
gccaaaacaa cacccccatc agtctatcca ctggccccta agggc 465

5 <210> 59
<211> 155
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 59
10 Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
1 5 10 15
Gly Thr Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser
20 25 30
Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp
35 40 45
Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val
50 55 60
Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
85 90 95
Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn
100 105 110
Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
115 120 125
Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
130 135 140
Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe
145 150 155

15 <210> 60
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 60

ES 2 788 183 T3

```

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

<210> 61
<211> 7
<212> PRT
5 <213> Mus musculus

<400> 61
Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
1           5

<210> 62
<211> 8
10 <212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 62
Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
1           5

<210> 63
<211> 458
15 <212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 63
atggaatgta actggatact tccttttatt ctgtcagtaa cttcaggtgt ctactcacag      60
gttcagctcc agcagctctgg ggctgagctg gcaagacctg gggcttcagt gaagttgtcc      120
tgcaaggctt ctggctacac ctttactagc tactggatgc agtgggtaaa acagaggcct      180
ggacagggtc tggaatggat tggggctatt tatcctggag atggtgatac taggtacact      240
cagaagttca agggcaaggc cacattgact gcagataaat cctccagcac agcctacatg      300
caactcagca gcttggcatc tgaggactct gcggtctatt actgtgcaag aaggatttac      360
tacggctatt actatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca      420
gccaaaacga caccoccatc tgtctatcca ctggcccc      458

20 <210> 64
<211> 152
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 64

```

ES 2 788 183 T3

Met Glu Cys Asn Trp Ile Leu Pro Phe Ile Leu Ser Val Thr Ser Gly
 1 5 10 15

Val Tyr Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg
 20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

Thr Ser Tyr Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr
 65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ile Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp
 115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr
 130 135 140

Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala
 145 150

5 <210> 65
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 65
 Ser Tyr Trp Met Gln
 1 5

10 <210> 66
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 66
 Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

15 Gly
 <210> 67
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

20 <400> 67
 Arg Ile Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 68

ES 2 788 183 T3

<211> 430
 <212> ADN
 <213> Mus musculus

<400> 68
 atggagacag acacaatcct gctatgggtg ctgctgctct gggttccagg ctccactggt 60
 gagattgtgc tgaccaatc tccagcttct ttggetgtgt ctctagggca gagggccacc 120
 5 atctcctgca aggccagcca aagtgttgat tatgatgggtg atagttatat gaactggtac 180
 caacagaaac caggacagcc acccaaacctc ctcatctatg ctgcatccaa tctagaatct 240
 gggatcccag ccaggtttag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 300
 cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc aaagtaatga ggatcctctc 360
 acgttcggtg ctgggaccaa gctggagctg aaacgggctg atgctgcacc aactgtatcc 420
 atcaagggcg 430

<210> 69
 <211> 143
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 69
 Met Glu Thr Asp Thr Ile Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala
 20 25 30
 Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser
 35 40 45
 Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
 50 55 60
 Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 65 70 75 80
 Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 85 90 95
 Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
 100 105 110
 Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
 115 120 125
 Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Lys Gly
 130 135 140

<210> 70
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 70
 Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn
 1 5 10 15

<210> 71
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

5 <400> 71
Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 72
 <211> 8
 <212> PRT
 10 <213> Mus musculus

<400> 72
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu
1 5

<210> 73
 <211> 39
 15 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador directo

<400> 73
 20 ttaagcttg cgccacat ggagtgga ctgagctgg 39

<210> 74
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Artificial

25 <220>
 <223> cebador inverso

<400> 74
 cgatggccc ttgtgctag ctgaggagac tgtgagagt gt 42

30 <210> 75
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador directo

35 <400> 75
 accaagcttg cgccacat gatgtcctct gctcagttc 39

<210> 76
 <211> 33
 <212> ADN
 40 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador inverso

<400> 76
 agccacagtt cgttgatt ccagcttgg gcc 33

45 <210> 77
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 50 <223> cebador directo

<400> 77
 ctggaaatca aacgaactgt ggctgcacca tct 33

<210> 78
 <211> 30
 5 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador inverso

<400> 78
 10 aaagaattcc tagcactctc ccctgttgaa 30

<210> 79
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Artificial

15 <220>
 <223> cebador directo

<400> 79
 tttaagcttg ccgccacat gaactgggg ctcagcttg 39

20 <210> 80
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador inverso

25 <400> 80
 cgatgggccc ttgtgctag ctgaggagac ggtgactgag gt 42

<210> 81
 <211> 39
 <212> ADN
 30 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador directo

<400> 81
 accaagcttg ccgccacat gatgtcctct gtcagttc 39

35 <210> 82
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 40 <223> cebador inverso

<400> 82
 agccacagtt cgtttgatt ccagcttgg gcc 33

<210> 83
 <211> 33
 45 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador directo

<400> 83
 50 ctggaaatca aacgaactgt ggctgcacca tct 33

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

5 <220>
 <223> cebador inverso

<400> 84
 aaagaattcc tagcactctc cctgttgaa 30

10 <210> 85
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador directo

15 <400> 85
 tttaagcttg ccgccacat ggaatgtaac tggatactt 39

<210> 86
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> cebador inverso

<400> 86
 cgatggccc ttgtgctag ctgaggagac ggtgactgag gt 42

25 <210> 87
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador directo

30 <400> 87
 accaagcttg ccgccacat ggagacagac acaatcctg 39

<210> 88
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> cebador inverso

<400> 88
 agccacagtt cgttcagct ccagcttggc ccc 33

<210> 89
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Artificial

45 <220>
 <223> cebador directo

<400> 89
 ctggagctga aacgaactgt ggctgcacca tct 33

50 <210> 90
 <211> 30
 <212> ADN

ES 2 788 183 T3

<213> Artificial

<220>

<223> cebador inverso

<400> 90

5 aaagaattcc tagcactctc ccctgtttaa 30

<210> 91

<211> 1419

<212> ADN

<213> Artificial

10 <220>

<223> secuencia de ácido nucleico de cadena pesada del anticuerpo anti-PTPRS quimera 9H5-4

<400> 91

atggagttgg gactgagctg ggtatttctt gtggctcttt tgaatggtgt ccagtgtcag	60
gtgcagcttg tagagaccgg gggaggcttg gtgaggcctg gaaattctct gaaactctcc	120
tgtgttacct cgggattcac tttcagtaac taccggatgc actggcttcg ccagcctcca	180
gggaagaggc tggagtggat tgctgtaatt acagtcaaat ctgataatta tggagcaaat	240
tatgcagagt ctgtgaaagg cagattcact atttcaagag atgattcaaa aagcagtgtc	300
tacctgcaga tgaacagatt aagagaggaa gacactgcca cttattattg tagtagatcg	360
gtctactatg gttacgtcct agcctttgac tactggggcc aaggcaccac tctcacagtc	420
tcctcagcta gcaccaaggc cccatcggtc ttccccctgg caccctcctc caagagcacc	480
tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg	540
gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag	600
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc	660
cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt	720
gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gccagcacc tgaactcctg	780
gggggaccgt cagtcttctt cttcccccca aaaccgaag acaccctcat gatctcccgg	840
accctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgaccacg aagaccctga ggtcaagttc	900
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag	960
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	1020
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	1080
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	1140
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc	1200
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct	1260
cccgtgctgg actccgacg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	1320
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	1380
15 tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaata	1419

<210> 92

<211> 472

<212> PRT

<213> Artificial

20 <220>

ES 2 788 183 T3

<223> secuencia de aminoácidos de cadena pesada del anticuerpo anti-PTPRS quimera 9H5-4

<400> 92

Met Glu Leu Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Asn Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Arg
 20 25 30

Pro Gly Asn Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Thr Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser Asn Tyr Arg Met His Trp Leu Arg Gln Pro Pro Gly Lys Arg Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Ala Val Ile Thr Val Lys Ser Asp Asn Tyr Gly Ala Asn
 65 70 75 80

Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
 85 90 95

Lys Ser Ser Val Tyr Leu Gln Met Asn Arg Leu Arg Glu Glu Asp Thr
 100 105 110

Ala Thr Tyr Tyr Cys Ser Arg Ser Val Tyr Tyr Gly Tyr Val Leu Ala
 115 120 125

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser
 130 135 140

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 145 150 155 160

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 165 170 175

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 180 185 190

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 195 200 205

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
 210 215 220

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
 225 230 235 240

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 245 250 255

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 260 265 270

5

ES 2 788 183 T3

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 275 280 285

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 290 295 300

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 305 310 315 320

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 325 330 335

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 340 345 350

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 355 360 365

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 370 375 380

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 385 390 395 400

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 405 410 415

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 420 425 430

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 435 440 445

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 450 455 460

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 93

<211> 705

<212> ADN

5 <213> Artificial

<220>

<223> secuencia de ácido nucleico de cadena ligera del anticuerpo anti-PTPRS quimera 9H5-4

<400> 93

atgatgtcct ctgctcagtt ccttggtctc ctgttgctct gttttcaagg taccagatgt 60

10

ES 2 788 183 T3

gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 120
 atcagttgca gggcaagtca ggacattagc aattatttaa actggtatca gcagaaacca 180
 gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcaagat tacactcagg agtcccatca 240
 aggttcagtg gcagtggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 300
 gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtggac gttcggtgga 360
 ggcaccaagc tggaaatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 420
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagtg gataacgcc tccaatcggg taactcccag 540
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtac ccatcagggc 660
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gctag 705

<210> 94

<211> 234

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo anti-PTPRS quimera 9H5-4

<400> 94

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser
 20 25 30

Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp
 35 40 45

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

Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
 85 90 95

Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn
 100 105 110

Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

10

ES 2 788 183 T3

115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230

<210> 95
 <211> 1413
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> secuencia de ácido nucleico de cadena pesada del anticuerpo anti-PTPRS quimera 13G5-57

<400> 95
 atgaacttgg ggctcagctt gattttcctt gtccttgttt taaaaggtgt ccagtgtgaa 60
 gtgaagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggccct gaaactctcc 120
 tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgac tattacatgt attgggttcg ccagactcca 180
 gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt agtaatgggtg gtggtagcac ctattatcca 240
 gacactgtaa agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg 300
 caaatgagcc gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acatgtttac 360
 tacgggagga actatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca 420
 gctagcacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 480
 ggcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 540
 tggaactcag gcgcctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtcctca 600
 ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 660
 tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 720

10

ES 2 788 183 T3

```

aaatcttggtg acaaaactca cacatgccca ccgtgccag cacctgaact cctgggggga 780
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct 840
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 960
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggatgag 1140
ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1260
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa cactacacg 1380
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1413

```

<210> 96
 <211> 470
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo anti-PTPRS quimera 13G5-57

```

<400> 96
Met Asn Leu Gly Leu Ser Leu Ile Phe Leu Val Leu Val Leu Lys Gly
1          5          10          15

Val Gln Cys Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
          20          25          30

Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe
          35          40          45

Ser Asp Tyr Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu
50          55          60

Glu Trp Val Ala Tyr Ile Ser Asn Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro
65          70          75          80

Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
          85          90          95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Arg Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met
          100          105          110

```

10

ES 2 788 183 T3

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Val Tyr Tyr Gly Arg Asn Tyr Ala Met Asp
 115 120 125
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 195 200 205
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 210 215 220
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 225 230 235 240
 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 245 250 255
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 260 265 270
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 275 280 285
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 290 295 300
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 305 310 315 320
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 325 330 335
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 340 345 350
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

ES 2 788 183 T3

<400> 98

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser
 20 25 30

Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp
 35 40 45

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

Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
 85 90 95

Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn
 100 105 110

Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230

- 5 <210> 99
- <211> 1413
- <212> ADN
- <213> Artificial

- <220>
- 10 <223> secuencia de ácido nucleico de cadena pesada del anticuerpo anti-PTPRS quimera 22H8-84

<400> 99

ES 2 788 183 T3

atggaatgta actggatact tccttttatt ctgtcagtaa cttcaggtgt ctactcacag 60
gttcagctcc agcagtctgg ggctgagctg gcaagacctg gggcttcagt gaagttgtcc 120
tgcaaggctt ctggctacac ctttactagc tactggatgc agtgggtaaa acagaggcct 180
ggacagggtc tggaatggat tggggctatt tatcctggag atggtgatac taggtacact 240
cagaagttca agggcaaggc cacattgact gcagataaat cctccagcac agcctacatg 300
caactcagca gcttggcatc tgaggactct gcggtctatt actgtgcaag aaggatttac 360
tacggctatt actatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca 420
gctagcacca agggcccacg ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 480
ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 540
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtctca 600
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcctcca gcagcttggg caccagacc 660
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 720
aatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgccag cacctgaact cctgggggga 780
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacacc tcctgatctc ccggaccct 840
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 960
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggatgag 1140
ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1260
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1380
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1413

5 <210> 100
<211> 470
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo anti-PTPRS quimera 22H8-84

10 <400> 100

ES 2 788 183 T3

Met Glu Cys Asn Trp Ile Leu Pro Phe Ile Leu Ser Val Thr Ser Gly
 1 5 10 15

Val Tyr Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg
 20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

Thr Ser Tyr Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr
 65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ile Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp
 115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190

ES 2 788 183 T3

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 210 215 220

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 225 230 235 240

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 245 250 255

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 260 265 270

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 275 280 285

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 290 295 300

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 305 310 315 320

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 325 330 335

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 340 345 350

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 355 360 365

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
 370 375 380

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 405 410 415

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 101
 <211> 717
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

ES 2 788 183 T3

<220>

<223> secuencia de ácido nucleico de cadena ligera del anticuerpo anti-PTPRS quimera 22H8-84

<400> 101

```

atggagacag acacaatcct gctatgggtg ctgctgctct gggttccagg ctccactggt      60
gacattgtgc tgaccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc      120
atctcctgca aggccagcca aagtgttgat tatgatgggtg atagttatat gaactggtac      180
caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatg ctgcatccaa tctagaatct      240
gggatcccag ccaggtttag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat      300
cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc aaagtaatga ggatcctctc      360
acgttcggtg ctgggaccaa gctggagctg aaacgaactg tggctgcacc atctgtcttc      420
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg      480
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg      540
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc      600
agcacctga cgctgagcaa agcagactac gaaaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc      660
acctacagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgctag      717
    
```

5 <210> 102

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo anti-PTPRS quimera 22H8-84

<400> 102

```

Met Glu Thr Asp Thr Ile Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1           5           10           15
    
```

```

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala
          20           25           30
    
```

ES 2 788 183 T3

Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser
 35 40 45

Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
 50 55 60

Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 65 70 75 80

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 85 90 95

Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
 100 105 110

Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
 115 120 125

Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
 130 135 140

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
 145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
 165 170 175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
 180 185 190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
 195 200 205

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
 210 215 220

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo monoclonal o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo que se une, según lo confirmado por citometría de flujo, con un dominio extracelular de la proteína tirosina fosfatasa σ de tipo receptor humano (PTPRS humana) en una célula dendrítica plasmacitoide humana, que es un anticuerpo recombinante o fragmento de anticuerpo que incluye una región de unión a antígeno.
2. Un anticuerpo monoclonal o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo según la reivindicación 1, que suprime la producción de interferón (IFN) por la célula y/o la supervivencia de la célula, y que es un anticuerpo recombinante o fragmento de anticuerpo que incluye una región de unión a antígeno.
- 10 3. El anticuerpo o el fragmento según la reivindicación 1 o 2 que es un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado, un Fv de cadena sencilla, un diacuerpo, un anticuerpo lineal o un anticuerpo multiespecífico formado a partir de fragmentos de anticuerpos.
4. El anticuerpo o el fragmento según la reivindicación 1 o 2, que es un anticuerpo humanizado.
5. El fragmento de anticuerpo según la reivindicación 1 o 2, que es un Fab o F(ab')₂.
- 15 6. El anticuerpo o el fragmento según la reivindicación 3 o 4, que es un anticuerpo quimérico o un anticuerpo humanizado que comprende una región constante procedente de IgG o IgM.
- 20 7. El anticuerpo o el fragmento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende una región de unión a antígeno de un anticuerpo monoclonal producido por el hibridoma 9H5-4 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11356, hibridoma 10F7-38 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11357, hibridoma 13G5-52 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11358, hibridoma 13G5-57 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11359, hibridoma 14A8-85 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11360, hibridoma 22H8-84 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11361, hibridoma 49F2-30 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11362 o hibridoma 55E7-79 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11363.
8. Un polinucleótido que codifica el anticuerpo quimérico de la reivindicación 3 o 6 o el anticuerpo humanizado de la reivindicación 4 o 6.
- 25 9. Un vector de expresión que comprende ADNc que codifica una región de unión a antígeno del anticuerpo del hibridoma 9H5-4 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11356, hibridoma 10F7-38 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11357, hibridoma 13G5-52 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11358, hibridoma 13G5-57 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11359, hibridoma 14A8-85 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11360, hibridoma 22H8-84 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11361, hibridoma 49F2-30 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11362 o hibridoma 55E7-79 que se depositó como n.º de referencia FERM BP-11363.
- 30 10. Un método para la producción del anticuerpo o el fragmento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
11. Un método según la reivindicación 10, que:
- (a) comprende recombinación génica;
- 35 (b) comprende un método de ingeniería genética que usa un polinucleótido de la reivindicación 8; o
- (c) comprende expresar el vector de la reivindicación 9 en una célula hospedadora.
12. Un método para la detección de una célula dendrítica plasmacitoide humana, que comprende poner en contacto el anticuerpo o el fragmento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 con una célula objeto y detectar el anticuerpo o el fragmento que se ha unido a la célula.
- 40 13. Uso del anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en el diagnóstico *in vitro* de enfermedades en las que están implicadas células dendríticas plasmacitoides humanas.
14. El anticuerpo o el fragmento según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7 para su uso en el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia, en donde el anticuerpo suprime la producción de IFN por una célula dendrítica plasmacitoide humana y/o la supervivencia de la célula.
- 45 15. El anticuerpo o el fragmento según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7 para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria en la que se potencia la expresión de IFN α , en donde el anticuerpo suprime la producción de IFN por una célula dendrítica plasmacitoide humana y/o la supervivencia de la célula.

FIG. 1

MAPTWGPGMVSVWGMGLLVLLVGGCAAEEPPRFKEPKDQIGVSGGVASFCQATGDPKPRVTWNKKGKVKVNSQRSFETIEFDE
Péptido señal
SAGAVLRIQPLRTPRDENVYECVAQNSVGEITVHAKLTVLREDQLPSGFPNIDMGPQLKWERTRATMLCAASGNPDPPEITWEKDFE
dominio de tipo Ig
LPVDPASANGRIKQLRSGALQIESSEETDQGYECVATNSAGVRYSSPANLYVRRRVAPRESILPMSHEIMPGGNVNITCVAVGSP
dominio de tipo Ig
MPYVKWMOGAEDLTPEDDMPVGRNVLELIDVKDSANTYTCVAMISLGVIEFAVQITVKS^{LPKAPGIPMVTENTATISITIIWDSGNPD}
dominio de tipo fibronectina tipo III
PVSYVYVIEYKSKSQDGPYQIKEDITITRYSIGGLSENSEYFEMVSAVNSIGQGPPESEVATRIGEQAPASAPRNVQARMLSATIMIVQ
dominio de tipo fibronectina tipo III
WEEFVFNGLIRGYRVVYTMFEFHPVGNWQKHNVDDSLITIVGSLLEDEITYRVMLAEISVGDGPI^{SDEIQVKTQQGGVGGQPMNL}
dominio de tipo fibronectina tipo III
RAEARSETISITLSWSPBROESIIKYELLEREGDHGREVGRGRIEDPITSYAVVEDIKENTFYAERLAARSPQGLGAETPWARQRILQSI^{SP}
dominio de tipo fibronectina tipo III
KNEKVKMMIMKTSVLLSWEFPDNYNSPTPKIQYANGILTDVGGRIKKLIIHLKPHTEYNEVLI^{NRGSSLLGGLQQTVAWTAFNLLNG}
KPSVAPKPDADGFIMVYLPDGGSPVQSYFIVMVPLRKSRRGGQLTPLGSPEDMDLEELIQDISRLQRRSLRHSRQLEVPRPYAAR
FSVLPPTFHPGDQKQYGGFDNRGLEPGHRYVFLVAVLQKSEPTFAASPFSDPFDLNDPDPQPIVDGEEGLI^{WVIGPVLAVVFI^{CM}}
región transmembrana
AILLYKNKPKDSKRKDSKSEPRTKCLLNNADLAPHHPKDPVEMRRINFQTPGMLSHPP^{IPIADMAETHERL^{KANDSLKLSQEYESIDPGQQ}}
FTWEHSNLEVNKPKNRYANVAYDHSRVILQPIEGIMGSDYINANYVDGYRCQNAVYATQGPLPETFGDFWRM^{VWVEQRSATIVMMT}
dominio PTP
RLEEKSRIKCDQYWPNRGTETYGFQVTLTDLTIELATFCVTRTFSLHKNGSSEKREVRQFQTAWPDHG^{VPEYPTPFLAF^{LRRVKTCN}}
PPDAGPIWHCSAGVGRGTCFVIDAMLERIKPEKTVDYVGHVTLMRSQRNVMVQTEDQYSFIHEALLEAV^{GCGNTEVPARSLYAYIQ}
KLAQVEPGEHVTGMELEFKRLANSKAHTSRFISANLPCNKFKNRLVNIMPYESTRVC^{LQPIRGVEGSDYINAS^{FIDGYRQQKAYIATQ}}
dominio PTP
GPLAETIEDFWRM^{LWENNSTI^{WMLTKLREMGREKCHQYWP^{AERSARYQYFV^{DPMAEYNMPQYILREFKVT^{DARDGQSR^{TVRQ}}}}}}
EQFIDWBEQGVKSGEGEIDEIGOVHKTKEQEGODGPISVHCSAGVGRIGVETLSMLFRMR^{YEGVVDIEQTVKMLRTORPAMVQI}
EDEYQECYQAAILEYLGSFDHYAT

FIG. 2

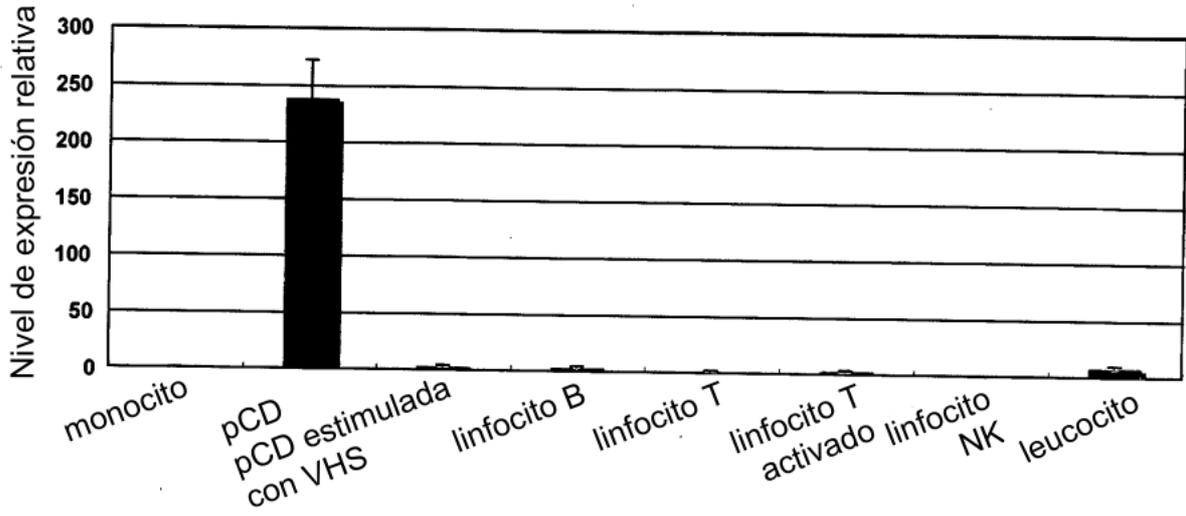


FIG. 3

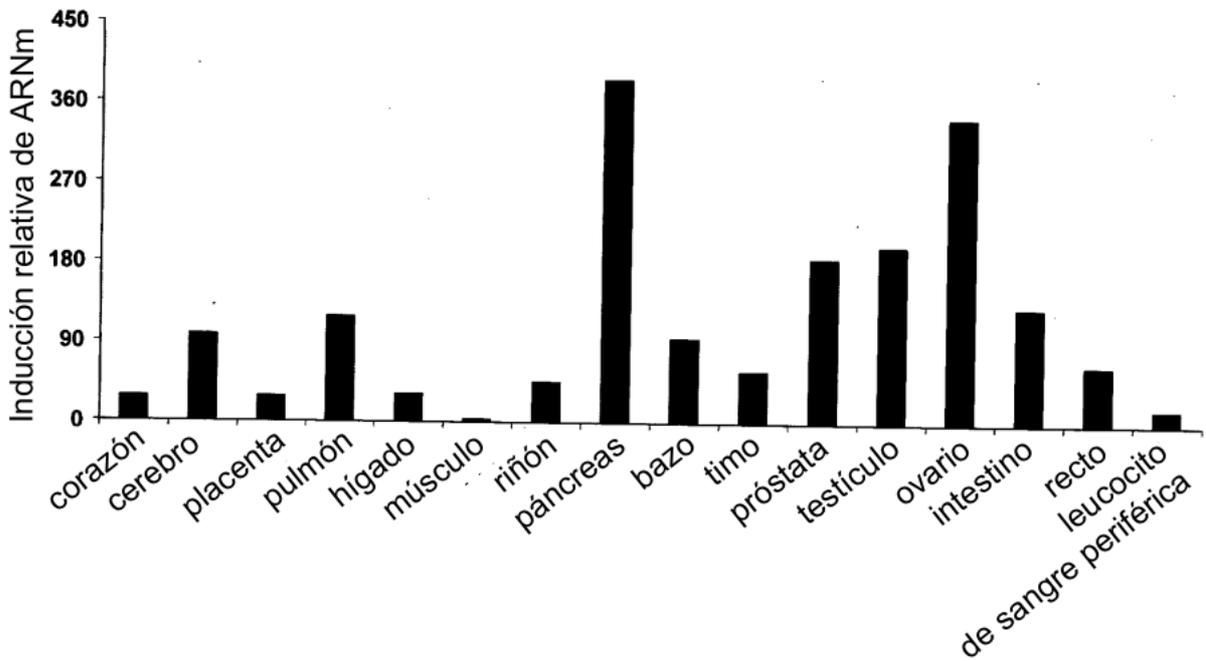


FIG. 4

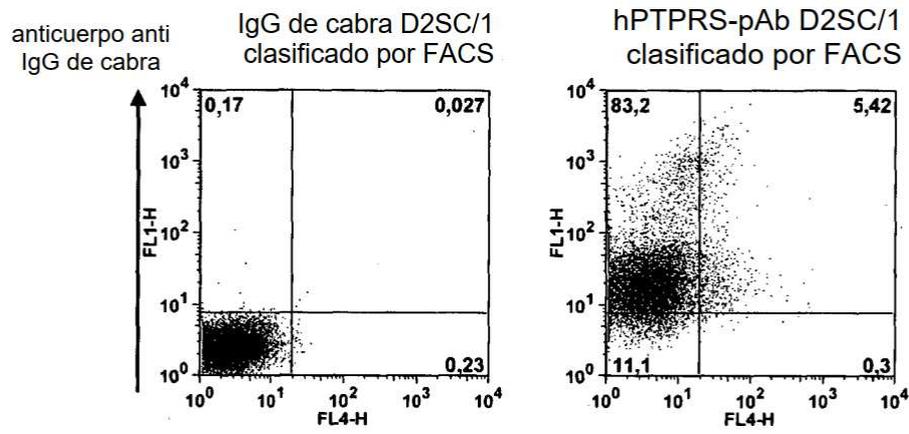
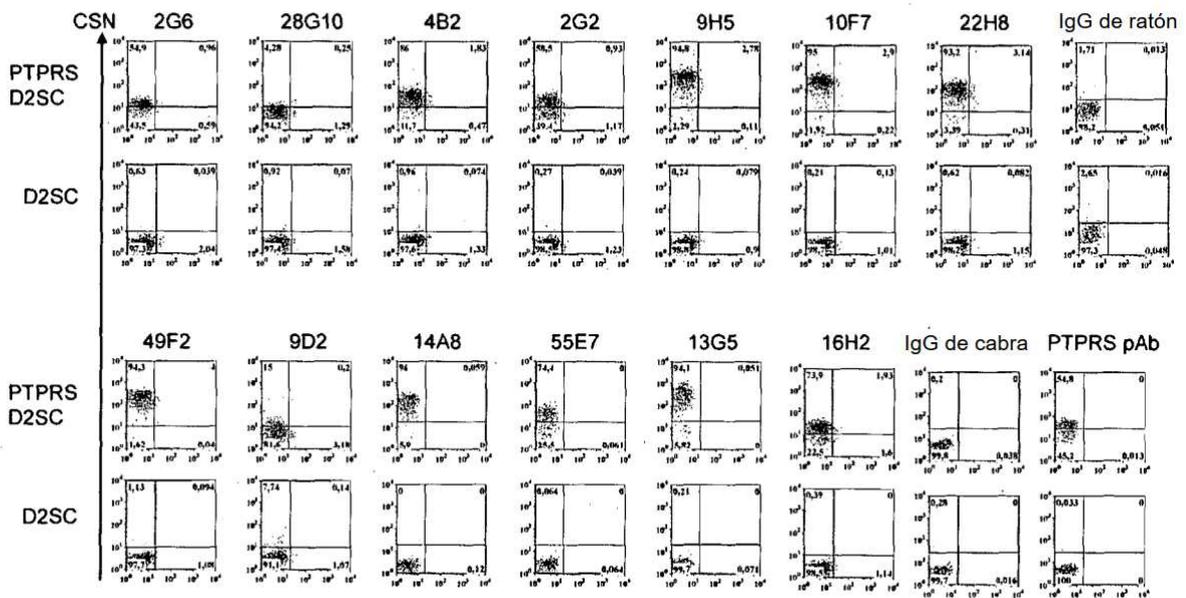
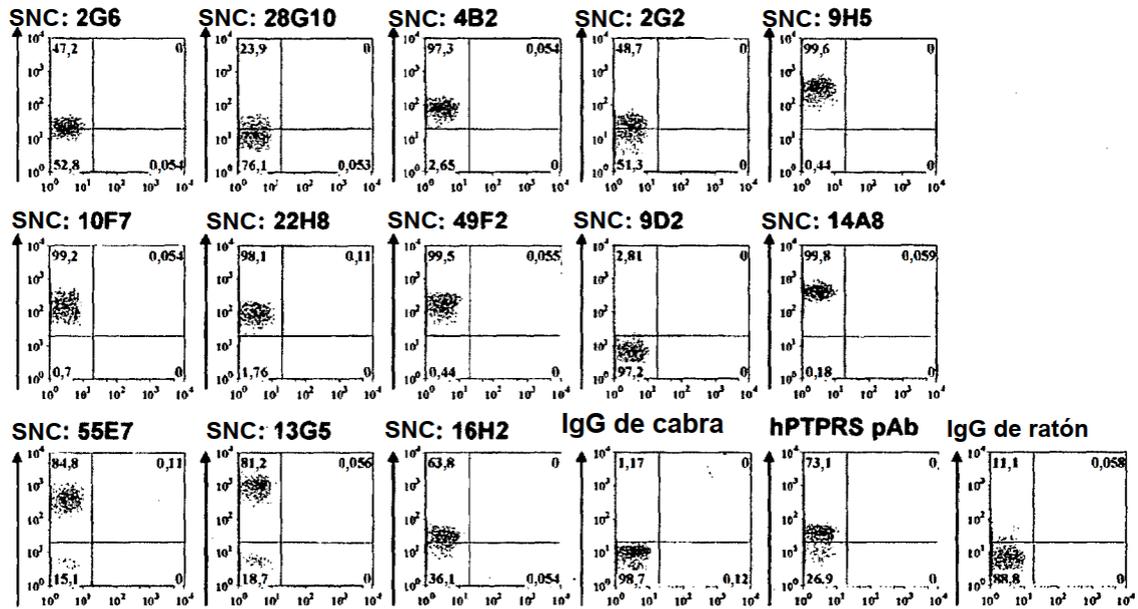


FIG. 5



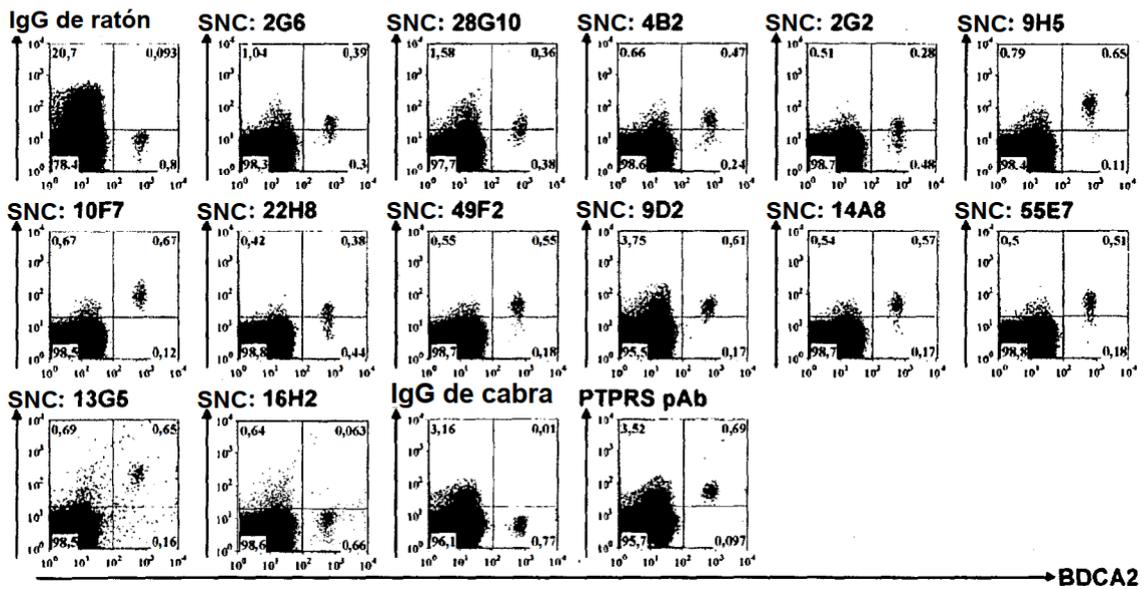
SNC: sobrenadante de cultivo

FIG. 6



SNC: sobrenadante de cultivo

FIG. 7



BDCA2

FIG. 8

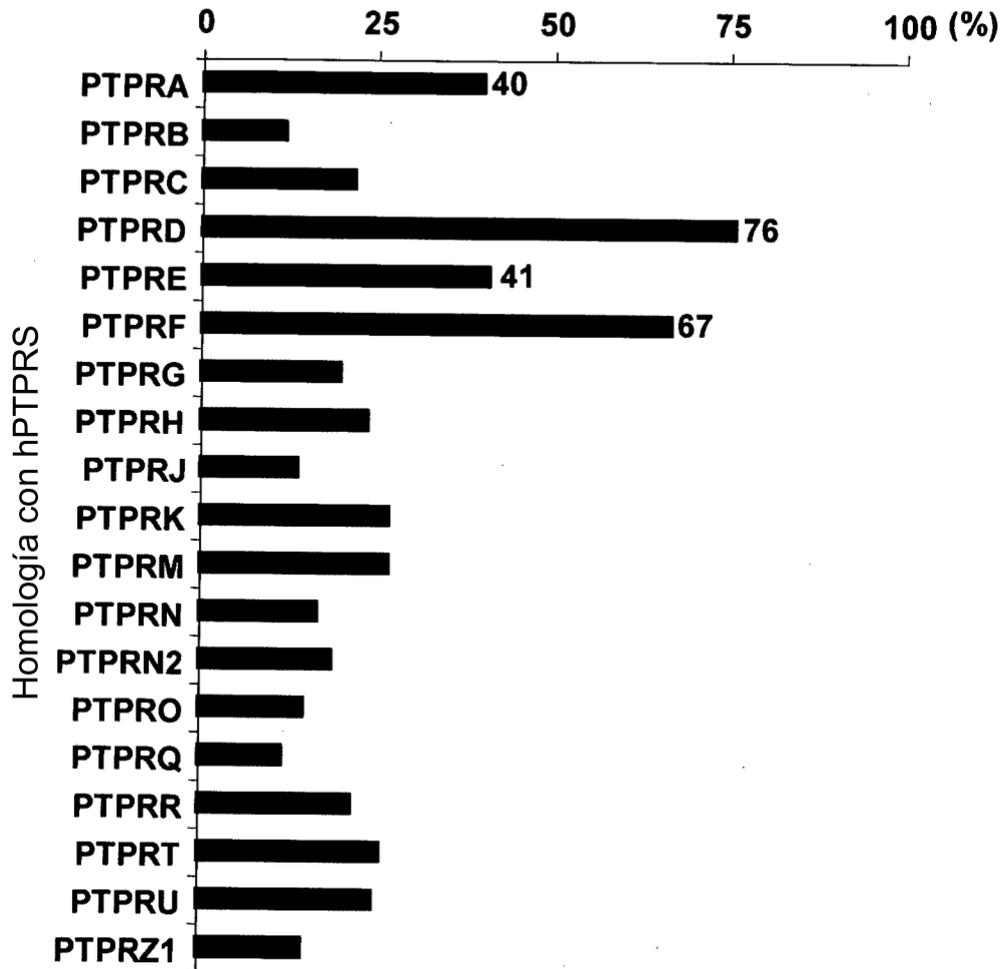


FIG. 9A

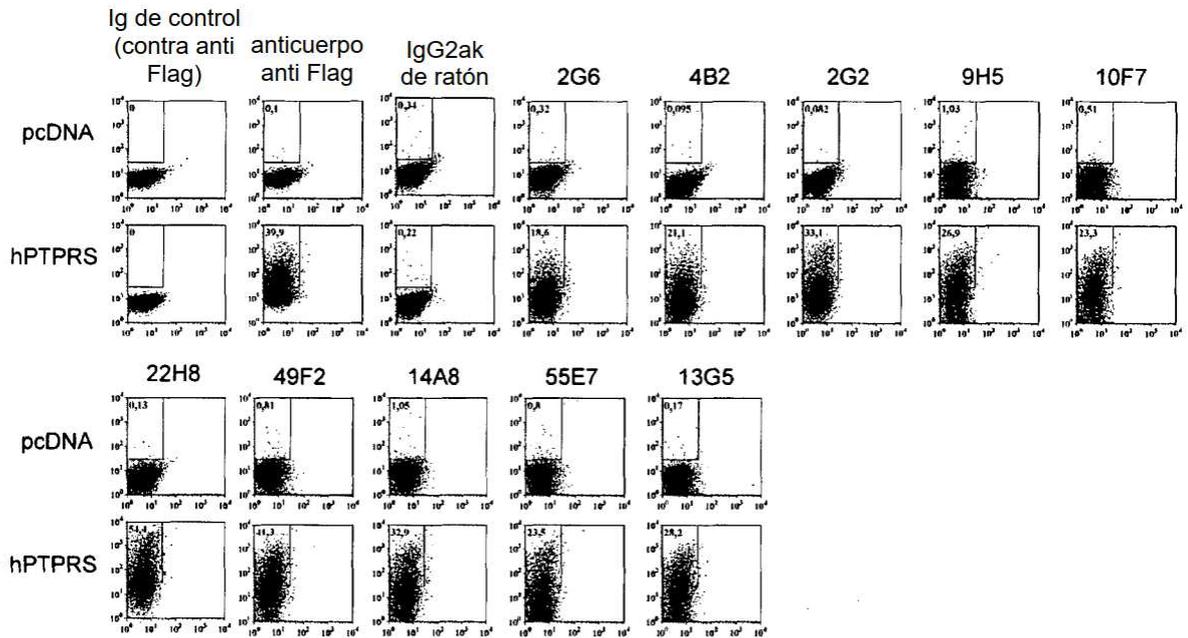


FIG. 9B

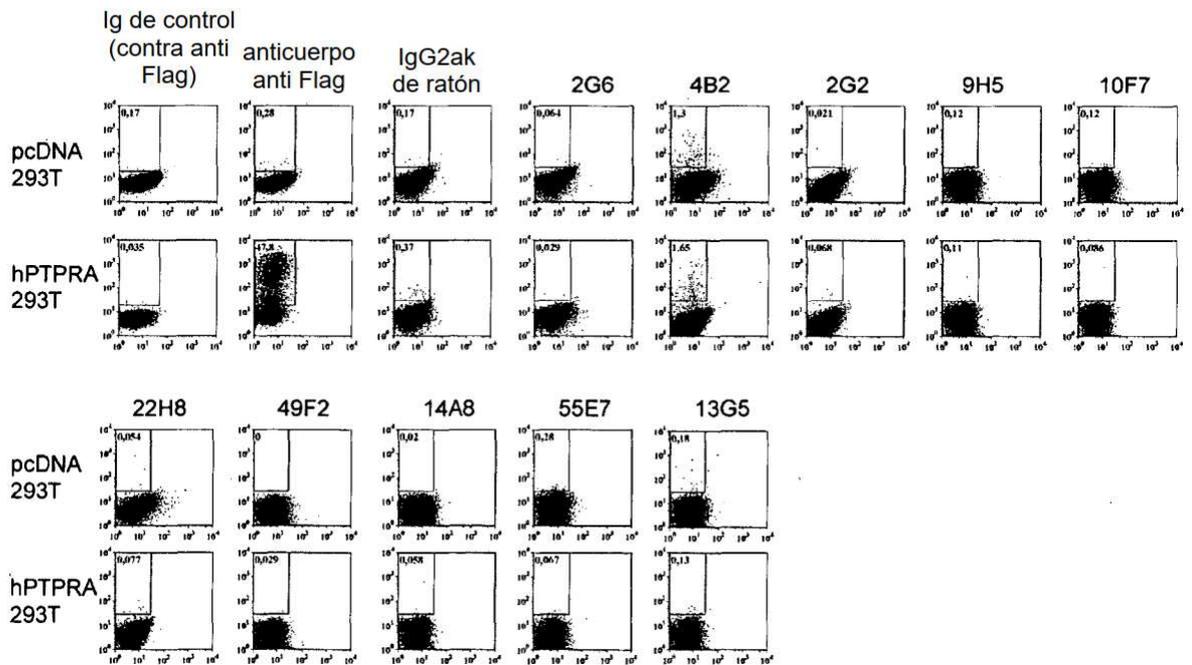


FIG. 9C

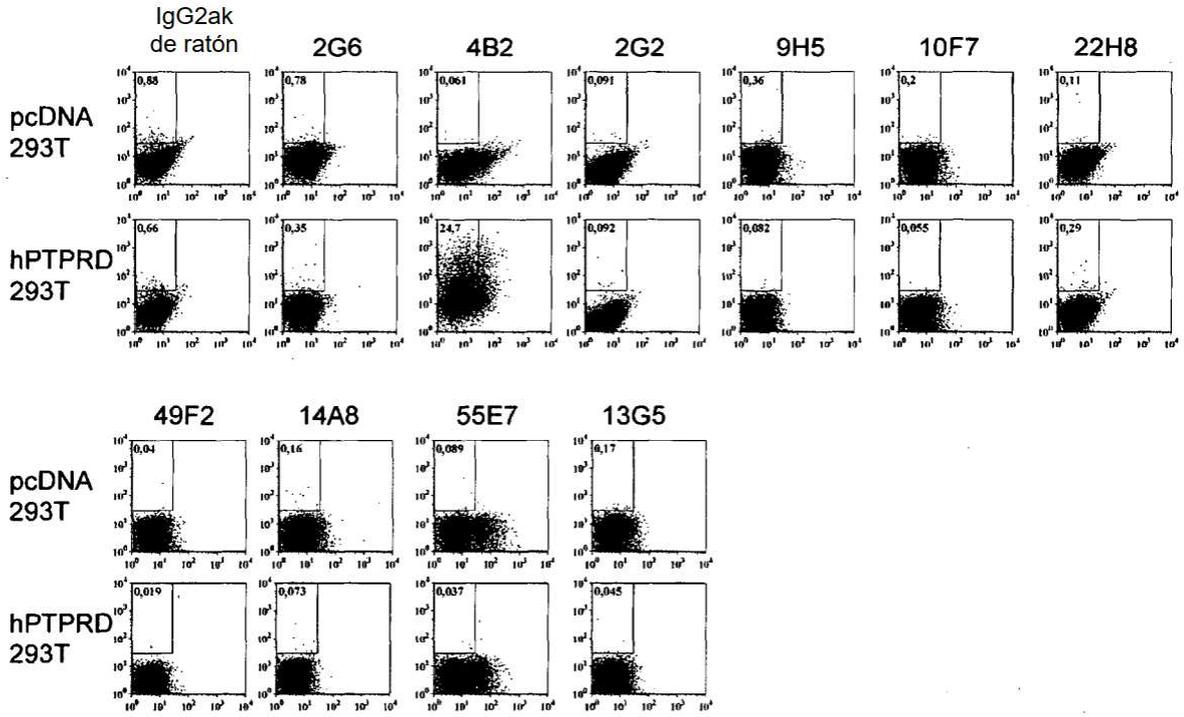


FIG. 9D

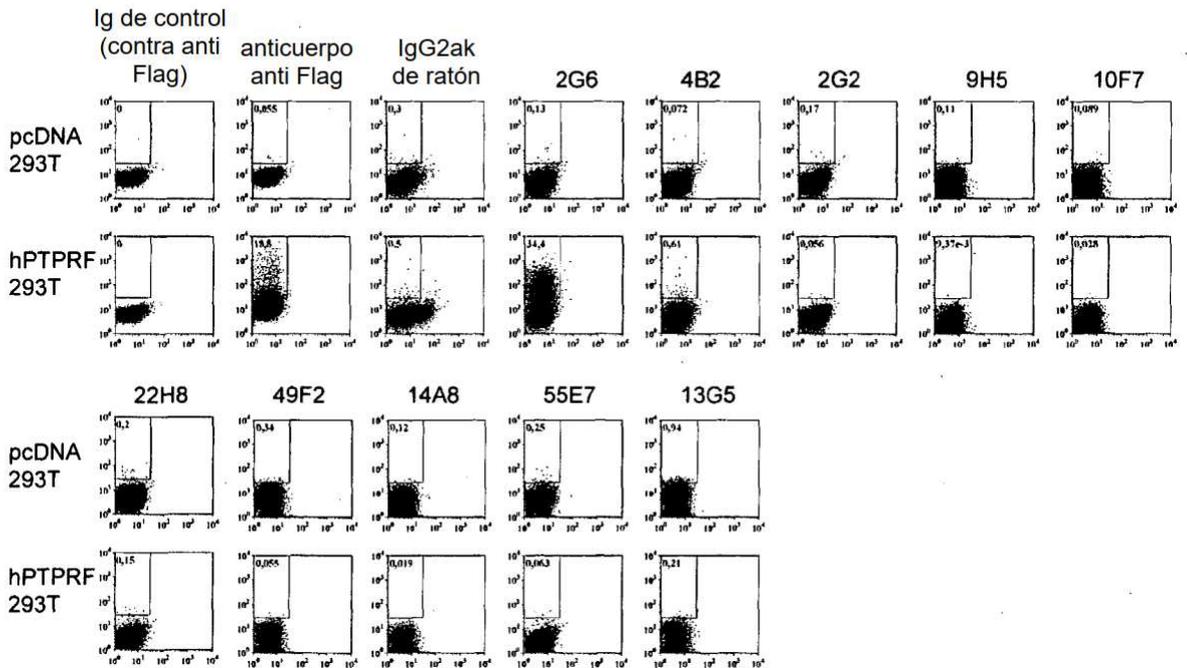


FIG. 10

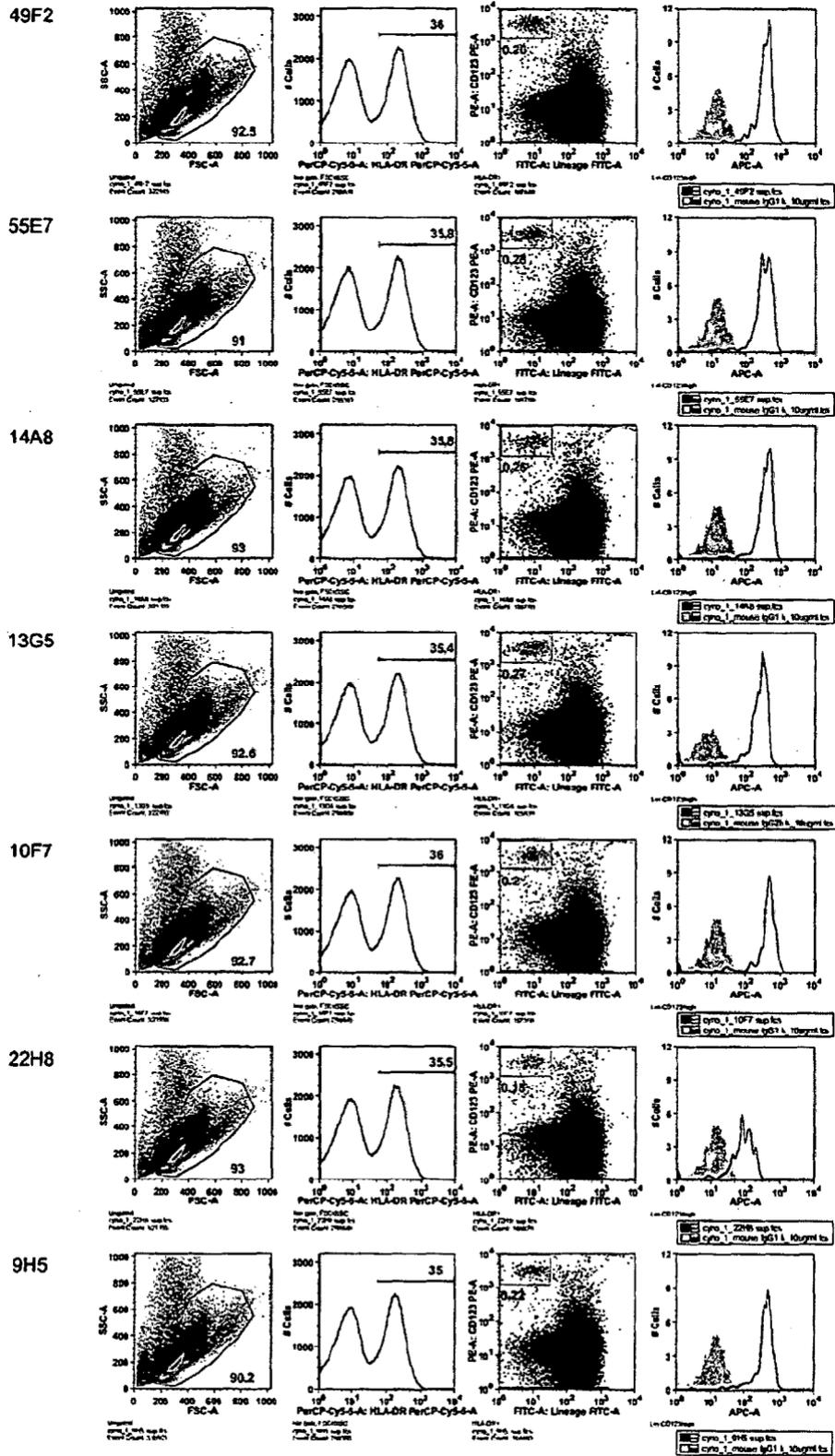


FIG. 11A

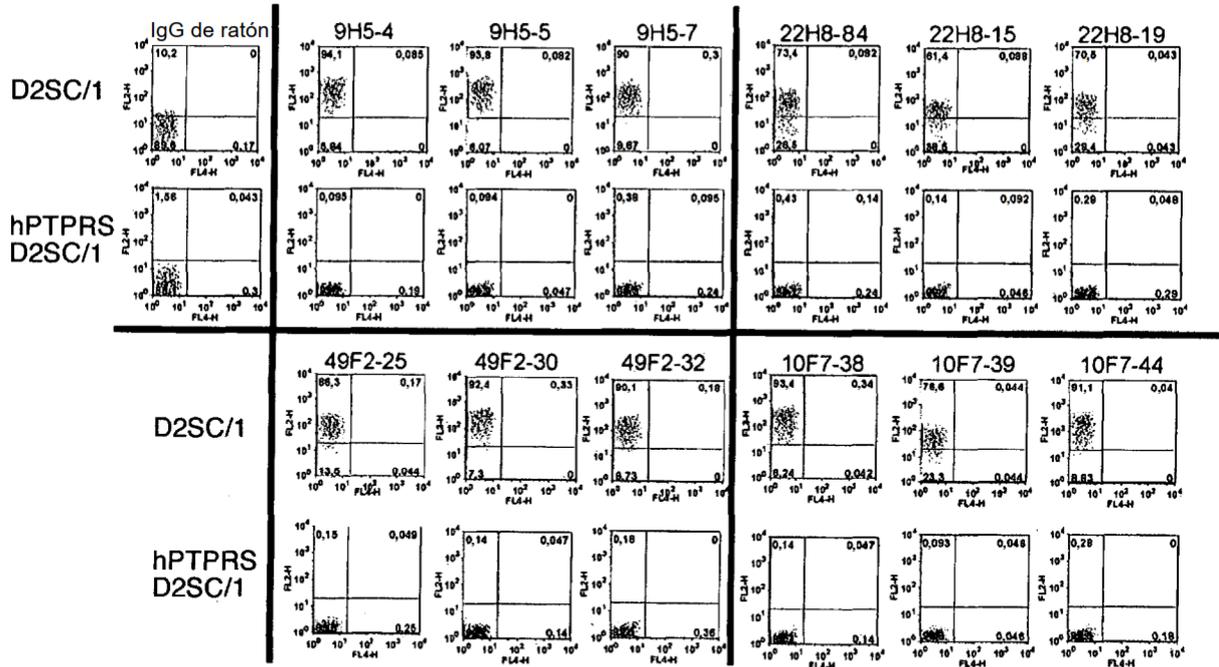


FIG. 11B

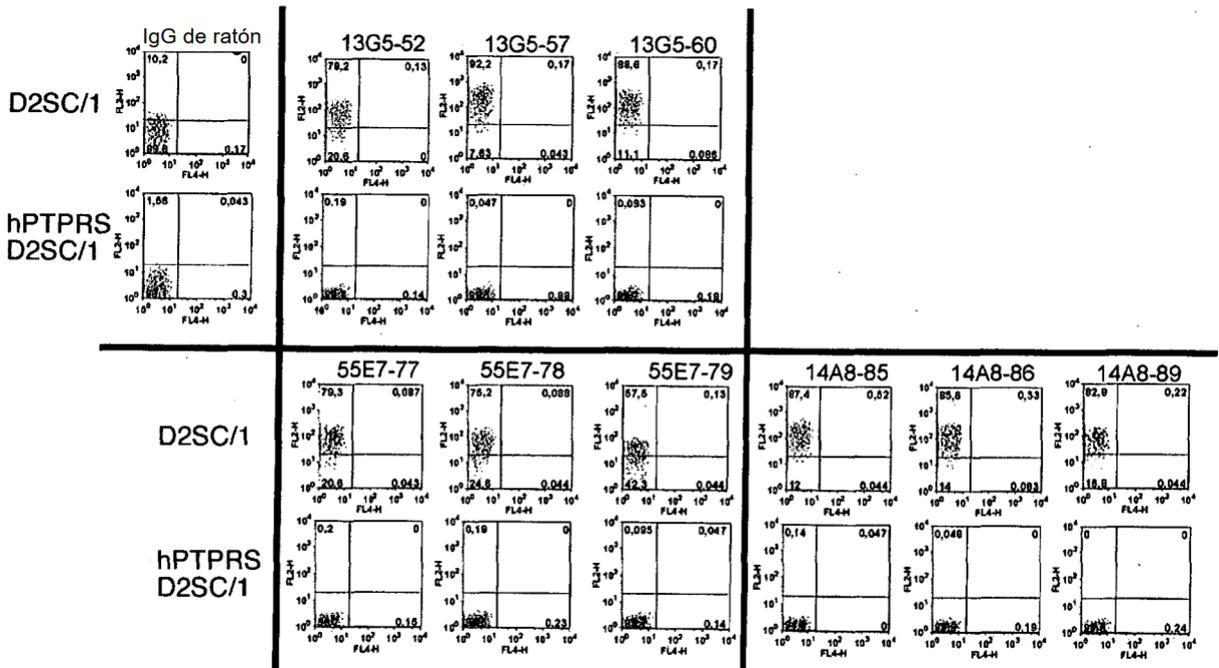


FIG. 11C

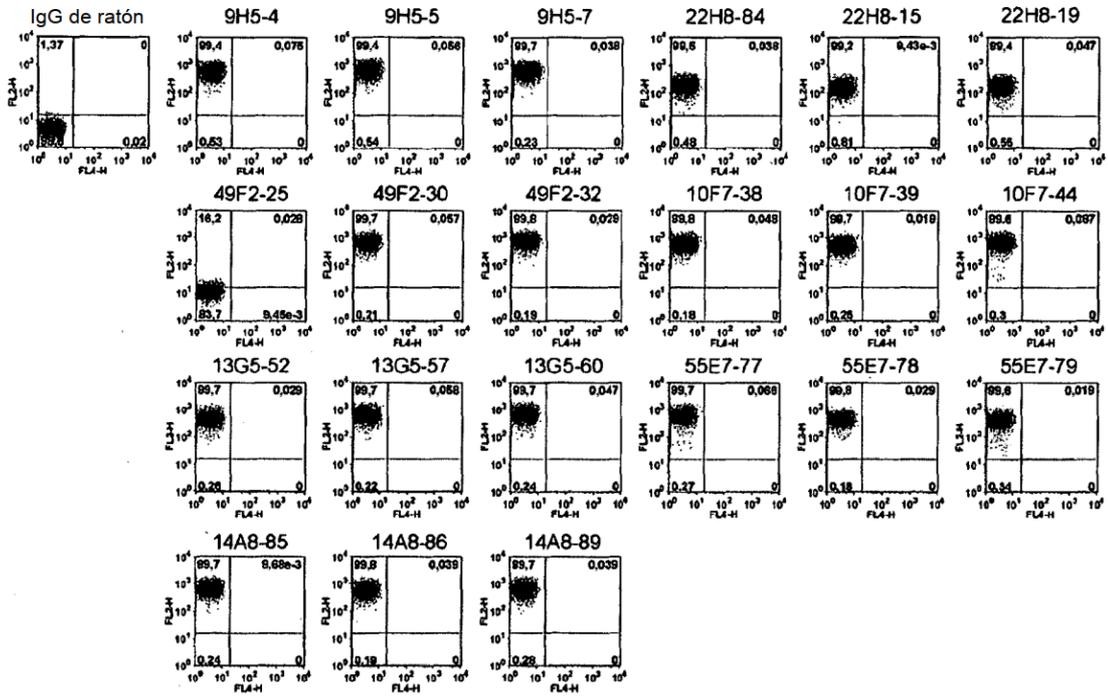
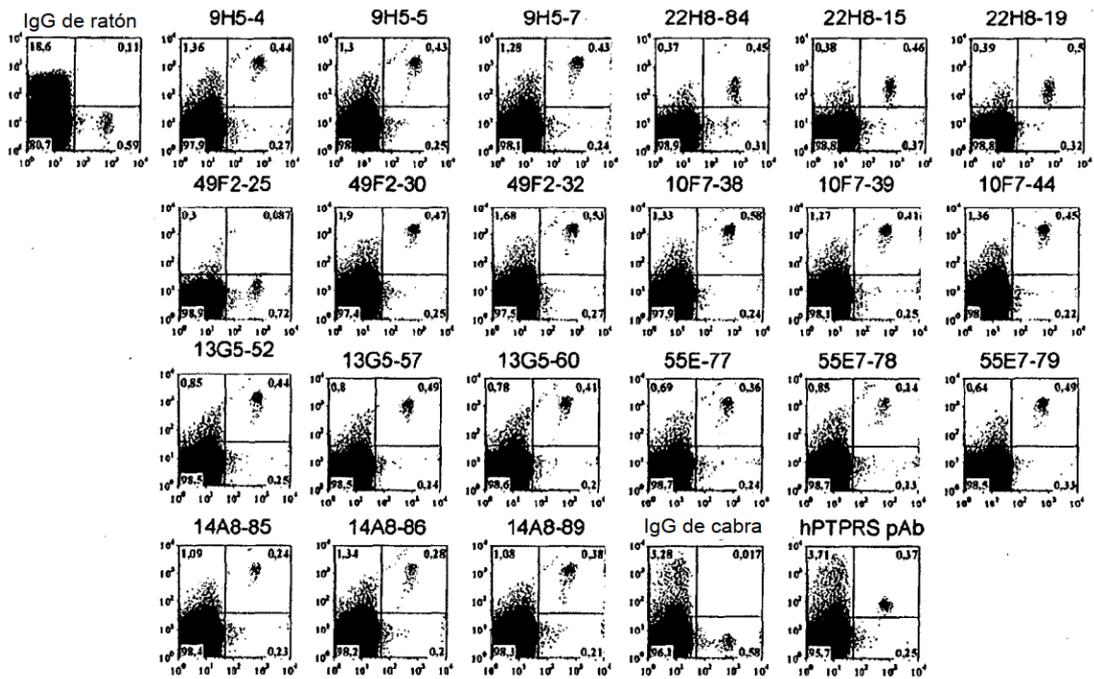


FIG. 11D



BDCA2

FIG. 12

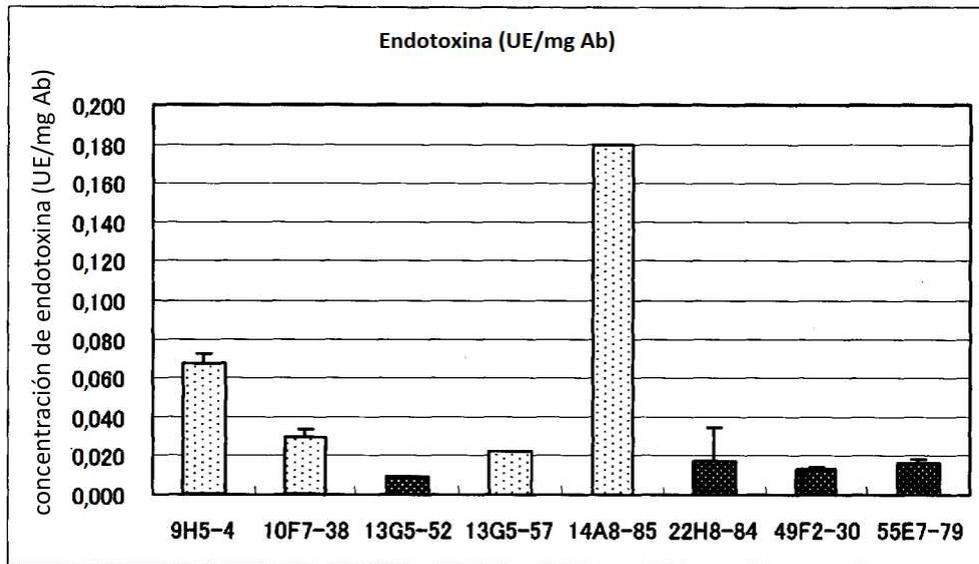


FIG. 13

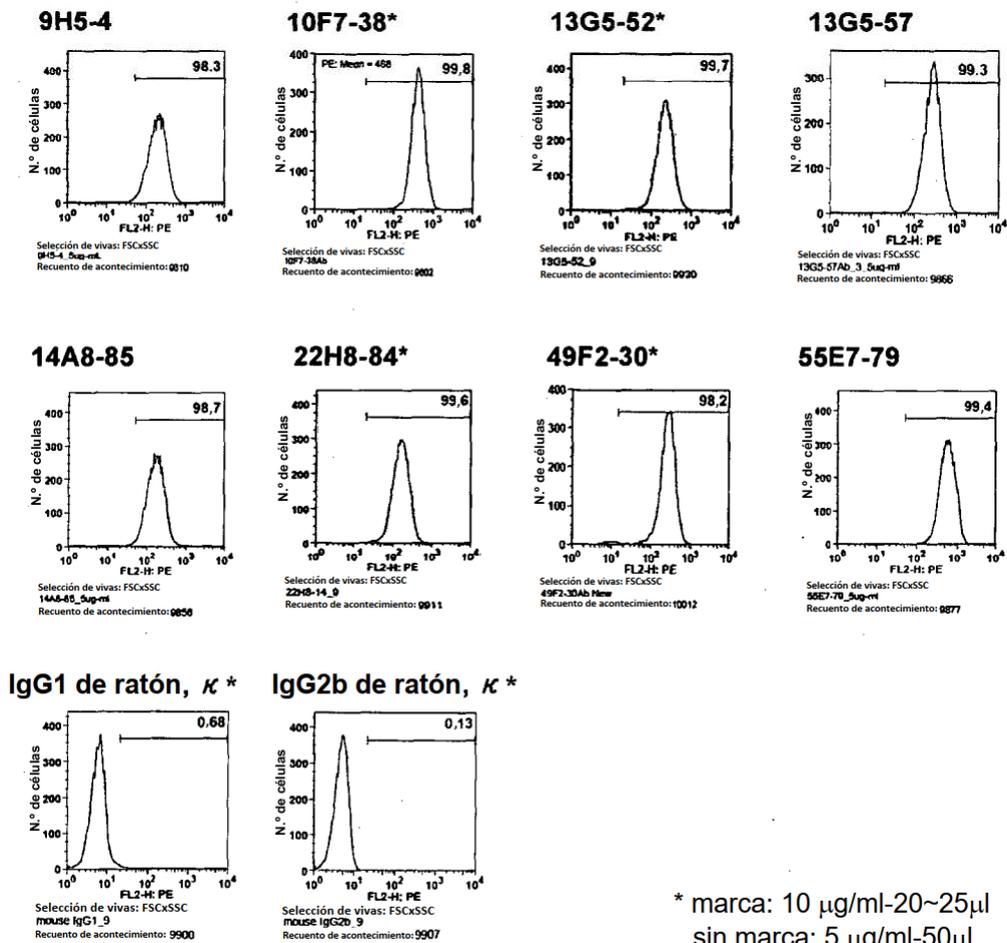


FIG. 14

anticuerpo anti BDCA2

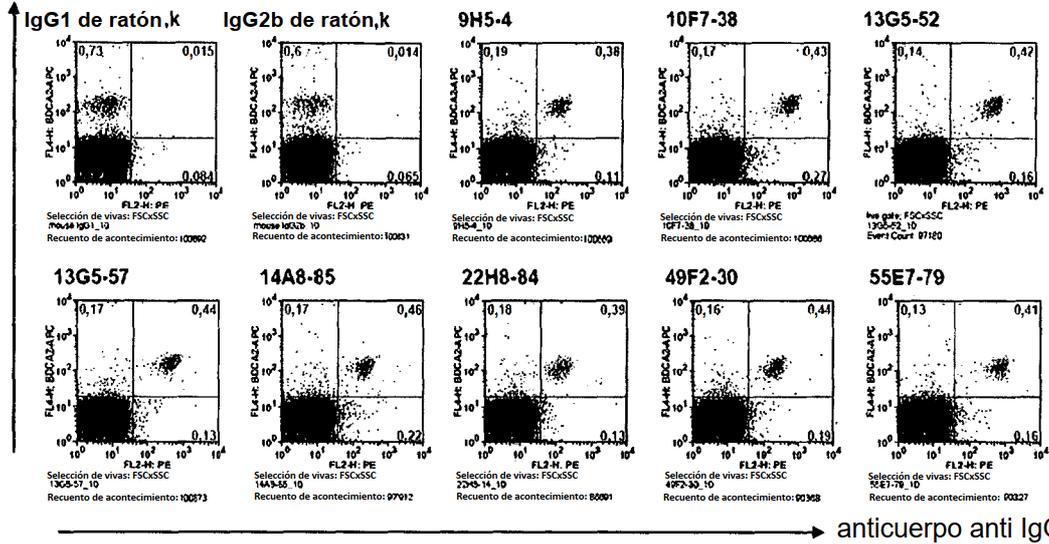


FIG. 15

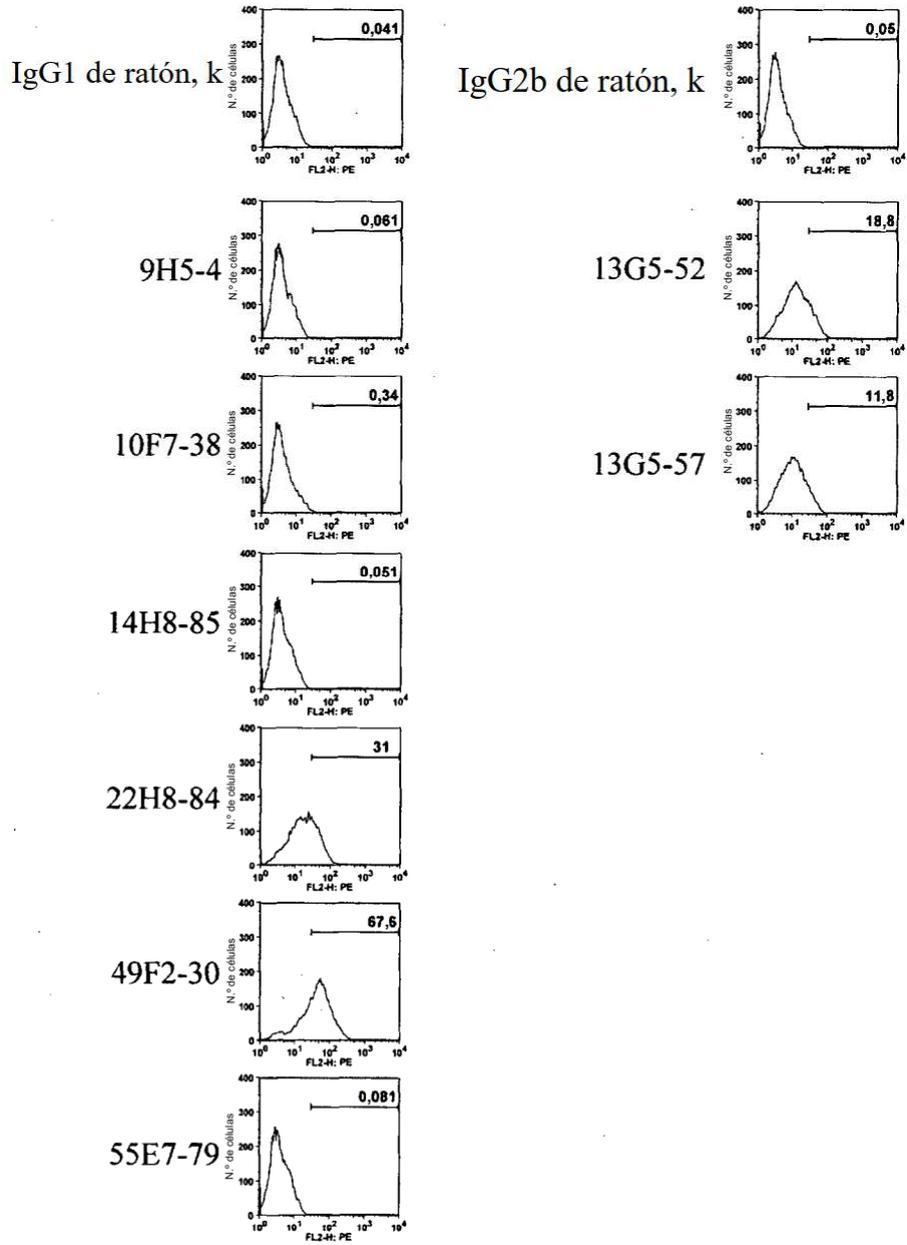
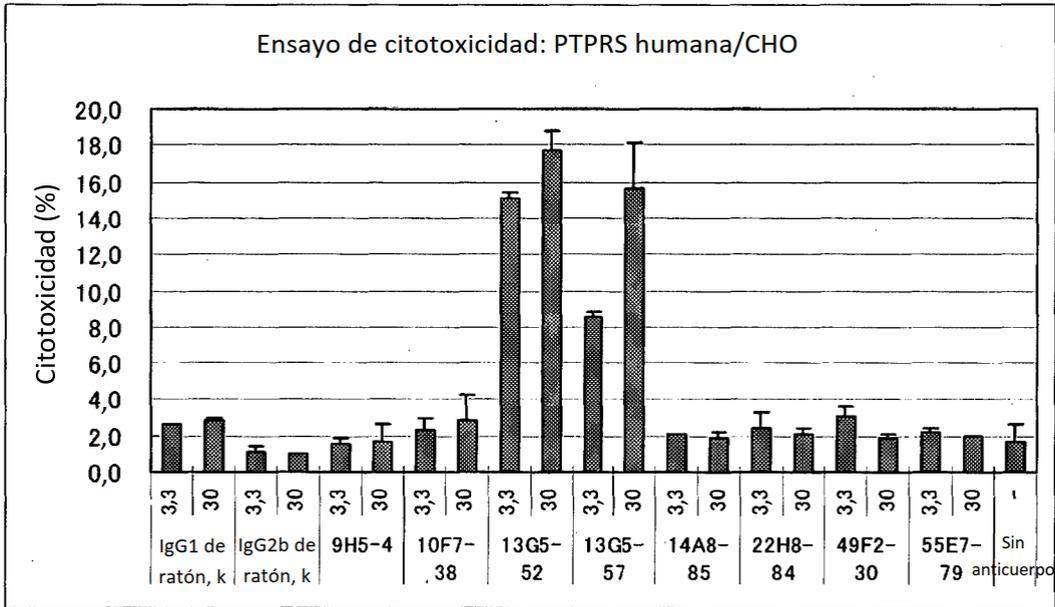


FIG. 16

A



B

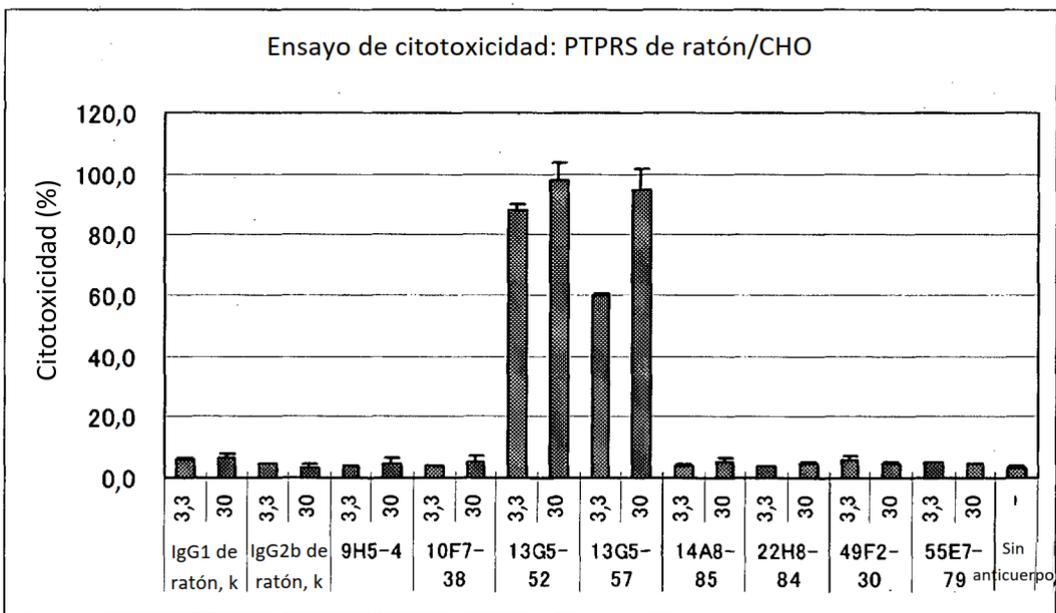
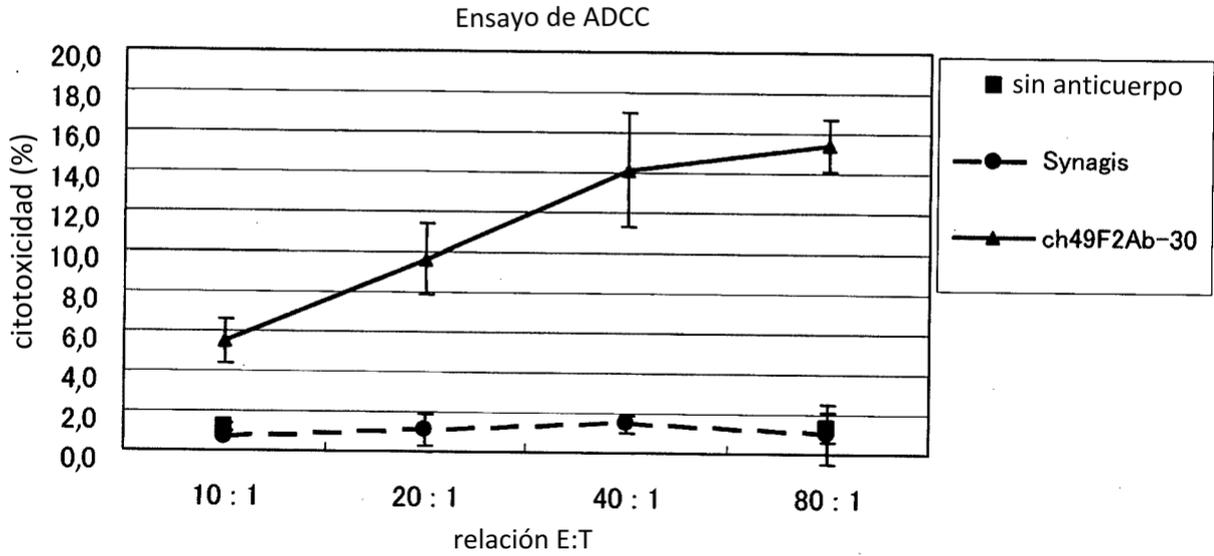


FIG. 17

A



B

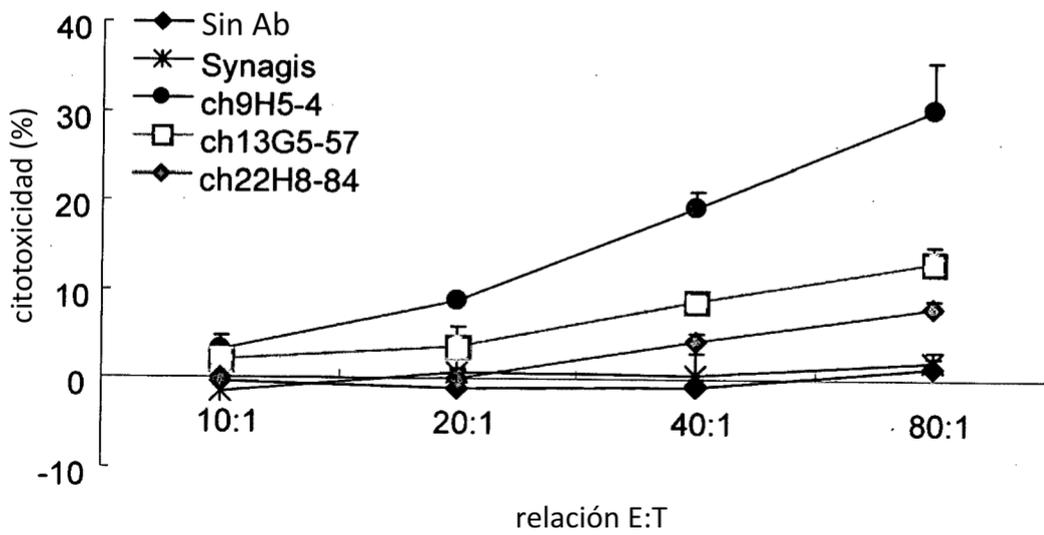
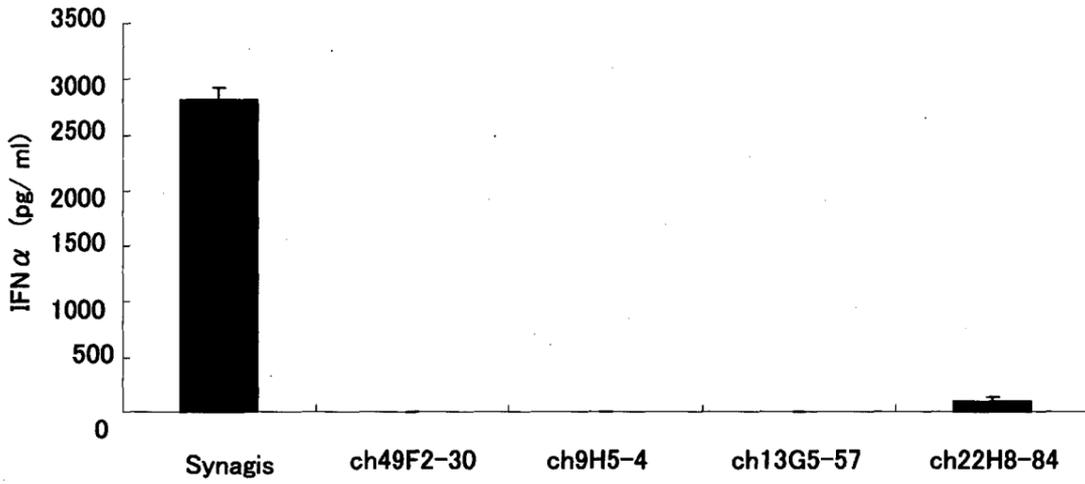
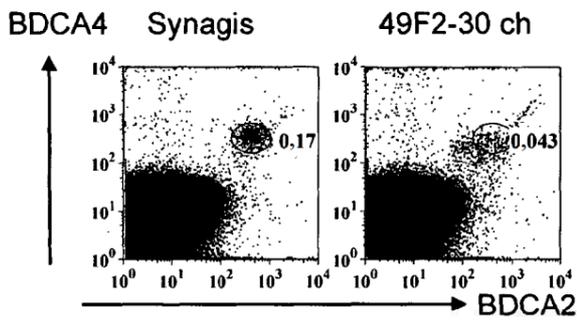


FIG. 18

A



B



C

