



Rgt

Handwritten signature

DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-152119-00000-0000

Fecha: 2010-12-02 15:53:45 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 139

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION



ENTIDAD FASENACIONALI

10-152119

21. EXPEDIENTE No.

ANTICUERPOS ANTI-IL-17A/IL-17F DE REACTIVIDAD CRUZADA Y METODOS

54. TITULO

DE USO DE LOS MISMOS

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

NOVIMUNE SA

DOMICILIO

GENEVA, SUIZA

74. APODERADO

JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

22. BOGOTÁ, D.C.

19-04-2011

AS: 115.135

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-152119- -00000-0000

Fecha: 2010-12-02 15:53:45 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 139FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1

SOLICITUD DE:



Patente de Invención.



Patente de Modelo de Utilidad.



Capítulo I.



Capítulo II.

2

SOLICITANTE

Nombre: NOVIMMUNE SA

Dirección: 14 Ch. des Aulx Plan les Ouates
CH-1228 Geneva, Suiza.

Nacionalidad o Domicilio: Suiza.

Lugar de Constitución: Suiza.

Teléfono:

Fax:

E-mail

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

Dirección: Calle 70ª #4 - 41, Bogotá, Colombia.

Teléfono: 744-2200

Fax: 742-2200

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número

80.410.337 TP 57492

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura
de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de radicación (del poder). _____

4

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: Krzysztof MASTERNAK, Olivier LEGER.

Dirección: Grand' Rue 15 CH-1146 Mollens, Suiza; 603 Route Des Luches F-
74800 St.-sixt, Francia (respectivamente).

Nacionalidad o Domicilio: Suiza y Francia (respectivamente).

5 PCT (86)

Solicitud Internacional No.

PCT/IB2009/005796

Fecha

05.05.2009

Publicación Internacional No

WO 2009/136286 A9

Fecha

12.11.2009

6 Título (54): ANTICUERPOS ANTI-IL-17A/IL-17F DE REACTIVIDAD CRUZADA Y MÉTODOS
DE USO DE LOS MISMOS

7 Clasificación Internacional (51):

8 Prioridad

SI ☒NO ☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

19.09.2008

(31) Número de Solicitud

61/098,369

US

05.05.2008

61/126,465

9 Comprobante de pago No.

10-91,361; 10-75,146; 10-75,123

Fecha 01-12-2010

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

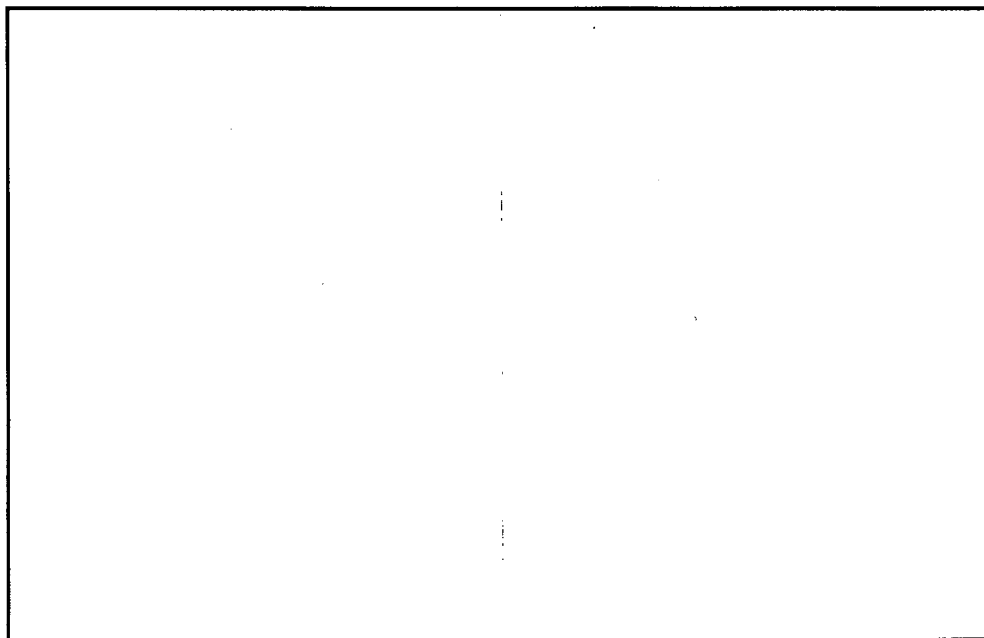
PI02-F06 (2009-12-04)

10

ANEXOS

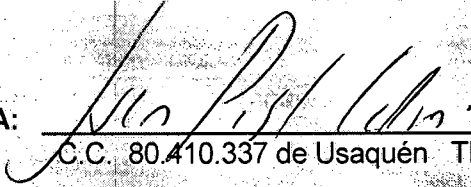
- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. \$ 554.000
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal de la persona jurídica peticionaria, en cuanto no estén inscritas en alguna Cámara de Comercio Colombiana.
- ☒ Poderes, si fuere el caso. **Fotocopia autenticada.**
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. **Fotocopia autenticada.**
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA)
- ☐ Traducción de examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: - Comprobante(s) de pago de la tasa por concepto de Reivindicaciones adicionales \$572.000 (22*\$26.000).

11 FIGURA CARACTERÍSTICA:



12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: JUÁN PABLO CADENA SARMIENTO

FIRMA: 
C.C. 80.410.337 de Usaquén TP 57492 del C.S.J.

1151353

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 91,361
FECHA : OCTUBRE 27 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-152119- -00000-0000

Fecha: 2010-12-02 15:53:45 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 139

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
BRIGARD & CASTRO LTDA	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	382749496	27/10/2010	38,161,200.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	554,000.00
		TOTAL :	\$ 554,000.00

SON: QUINIENTOS CINCUENTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 75,146
FECHA : SEPTIEMBRE 10 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-152119- -00000-0000

Fecha: 2010-12-02 15:53:45 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 139

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
BRIGARD & CASTRO LTDA	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	382752285	08/09/2010	30,363,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	520,000.00
99		OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	520,000.00
TOTAL :			\$ 520,000.00

SON: QUINIENTOS VEINTE MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 75,123
FECHA : SEPTIEMBRE 10 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-152119- -00000-0000

Fecha: 2010-12-02 15:53:45 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 139

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
BRIGARD & CASTRO LTDA	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	382752285	08/09/2010	30,363,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	52,000.00
		TOTAL :	\$ 52,000.00

SON: CINCUENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

CORRECTED VERSION

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
12 November 2009 (12.11.2009)

(10) International Publication Number
WO 2009/136286 A9

(51) International Patent Classification:
C07K 16/00 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/IB2009/005796

(22) International Filing Date:
5 May 2009 (05.05.2009)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/126,465 5 May 2008 (05.05.2008) US
61/098,369 19 September 2008 (19.09.2008) US

(71) Applicant (for all designated States except US):
NOVIMMUNE SA [CH/CH]; 14 Ch. des Aulx, Plan les
Ouates, CH-1228 Geneva (CH).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): MASTERNAK,
Krzysztof [PL/CH]; Grand' Rue 15, CH-1146 Mollens
(CH). LEGER, Olivier [FR/FR]; 603 Route Des Luches,
F-74800 St.-sixt (FR).

(74) Agents: FINNIE, Isobel, Lara et al.; Mintz Levin Cohn
Ferris Glovsky & Popeo Property LLP, Alder Castle, 10
Noble Street, London EC2V 7JX (GB).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ,
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO,
NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG,
SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— without international search report and to be republished
upon receipt of that report (Rule 48.2(g))

(48) Date of publication of this corrected version:
22 April 2010

(15) Information about Correction:
see Notice of 22 April 2010



WO 2009/136286 A9

(54) Title: ANTI-IL 17A/IL-17F CROSS-REACTIVE ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF

(57) Abstract: This invention provides fully human monoclonal antibodies that recognize IL- 17F, the IL- 17F homodimer, IL-17A, the IL- 17A homodimer, and/or the heterodimeric IL- 17A/IL-17F protein complex. The invention further provides methods of using such monoclonal antibodies as a therapeutic, diagnostic, and prophylactic.

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA SEGÚN EL TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

VERSIÓN CORREGIDA

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional

12 de Noviembre de 2009 (12.11.2009)

(10) Número de Publicación Internacional

PCT

WO 2009/136286 A9

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
A61K 39/395 (2006.01), C07K 16/24 (2006.01)

(21) No. Solicitud Internacional: PCT/IB2009/005796

(22) Fecha de Presentación Internacional:
05 de Mayo de 2009 (05.05.2009)

(25) Idioma de Presentación: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Datos relativos a la Prioridad:
61/098,369 19 de Septiembre de 2008 (19.09.2008) US
61/126,465 05 de Mayo de de 2008 (05.05.2008) US

(71) Solicitante (para todos los países destinatarios con
excepción de EU): NOVIMMUNE SA [CH/CH]; 14 Ch.
des Aulx Plan les Ouates CH-1228 Geneva (CH).

(72) Inventores, e

(75) Inventores/Solicitantes (para US únicamente):
MASTERNAK, Krzysztof [PL/CH]; Grand' Rue 15 CH-
1146 Mollens (CH). LEGER, Olivier [FR/FR]; 603 Route
Des Luches F-74800 St.-sixt (FR).

(74) Agente: FINNIE, Isobel, Lara; Mintz Levin Cohn Ferris
Glovsky & Popeo Property LLP Alder Castle 10 Noble
Street London EC2V 7JX (GB).

(81) Países designados (a menos que se indique lo
contrario para cada clase de protección disponible):
AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW,
BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG,
SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Países designados (a menos que se indique lo
contrario para cada clase de protección disponible):
ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL,
SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiática (AM, AZ, BY, KG,
KZ, MD, RU, TJ, TM), Europea (AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT,
LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

Publicado:

— sin informe internacional de búsqueda y para volverse a
publicar en el caso de recibo de modificaciones (Regla 48.2
(g)).

(48) Fecha de publicación de esta versión corregida:
22 de abril de 2010

(15) Información sobre la modificación
ver comunicación del 22 de abril de 2010

(54) Título: ANTICUERPOS ANTI-IL-17A/IL-17F DE REACTIVIDAD CRUZADA Y MÉTODOS DE USO DE LOS MISMOS

(57) Extracto: Esta invención proporciona anticuerpos monoclonales totalmente humanos que reconocen a la IL-17F, al homodímero de IL-17F, a la IL-17A, al homodímero de IL-17A, y/o al complejo de proteína heterodimérico de IL-17A/IL-17F. La invención proporciona además métodos para utilizar dichos anticuerpos monoclonales como un agente terapéutico, de diagnóstico y profiláctico.

ANTICUERPOS ANTI-IL-17A/IL-17F DE REACTIVIDAD CRUZADA Y MÉTODOS DE USO DE LOS MISMOS

SOLICITUDES RELACIONADAS

- 5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud EE.UU. provisional No. 61/126, 465, presentada el 05 de mayo de 2008, y la solicitud EE.UU. provisional No. 61/098,369, presentada el 19 de septiembre de 2008, siendo el contenido de cada una incorporado en este documento para referencia en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCION

- 10 Esta invención se relaciona generalmente con la generación de anticuerpos monoclonales, por ejemplo, los anticuerpos monoclonales totalmente humanos, que reconocen la IL-17F, con los anticuerpos monoclonales, por ejemplo, anticuerpos totalmente humanos que reconocen el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, y con los anticuerpos monoclonales, por ejemplo, los anticuerpos de reactividad cruzada
15 totalmente humanos que reconocen tanto la IL-17F como la IL-17A cuando no forman juntas un complejo, y con los métodos de la utilización de anticuerpos monoclonales como agentes terapéuticos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- La IL-17A (nombrada originalmente CTL-8, y conocida también como IL-17) es el miembro
20 fundador/arquetípico de la familia IL-17 de citoquinas. Adicionalmente a la IL-17A, los miembros de la familia de citoquinas IL-17 incluyen actualmente las proteínas IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (también llamada como IL-25) y la IL-17F que comparten una región C-terminal conservada pero diferentes segmentos N-terminal.

- La IL-17A y la IL-17F son los dos miembros relacionados más cercanos de la familia,
25 ambos en términos de secuencia y propiedades biológicas. La IL-17F comparte el 55% de la identidad de secuencia con la IL-17A, a nivel de aminoácidos. Tanto la IL-17A como la IL-17F son secretadas como homodímeros vinculados por disulfuro que señala a través de los receptores IL-17R, IL-17RC, o un complejo receptor multimérico compuesto de la IL-17R y de la IL-17RC. Ambas son también co-expresadas en los mismos subconjuntos
30 de células T (principalmente por las células T CD4⁺ Th17).

- Además, ambas han sido igualmente implicadas como agentes que contribuyen a la progresión y patología de una variedad de enfermedades inflamatorias y autoinmunes en los humanos y en modelos de ratón de enfermedades humanas. Específicamente, la IL-17A y la IL-17F han sido implicadas como importantes citoquinas efectoras que
35 desencadenan respuestas inflamatorias y de esa forma contribuyen a una serie de enfermedades autoinflamatorias, incluyendo la esclerosis múltiple, la artritis reumatoide y enfermedades inflamatorias del intestino y cáncer.

Las actividades *in vivo* demostradas tanto de la IL-17A como de la IL-17F ilustran el

potencial clínico y/o terapéutico de, y la necesidad de, los antagonistas de la IL-17A y de la IL-17F. Específicamente, los anticuerpos que se unen tanto a la IL-17A como a la IL-17F e inhiben (anticuerpos antagonistas) uno o más de las actividades inmunológicas tanto de la IL-17A como de la IL-17F, serían beneficiosos. Por lo tanto, sigue habiendo una necesidad en el arte de un antagonista que sea de reactividad cruzada tanto para la IL-17A como para la IL-17F y para el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona anticuerpos monoclonales, como los anticuerpos monoclonales totalmente humanos que se unen específicamente a la IL-17F, al homodímero de IL-17F, la IL-17A, al homodímero de IL-17A y/o al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F. Los anticuerpos de la invención son capaces de modular, por ejemplo, bloquear, inhibir, reducir, antagonizar, neutralizar o por otra parte interferir con la IL-17, la IL-17 y/o la citoquina IL-17A/IL-17F pro-inflamatoria mediada y/o la producción de quimioquinas.

Los anticuerpos monoclonales ejemplares de la invención incluyen, por ejemplo, el anticuerpo 30D12, el anticuerpo 29D8, el anticuerpo 1E4, el anticuerpo 31A3, el anticuerpo 39F12, el anticuerpo 12B12, el anticuerpo 15B7, el anticuerpo 4H11, el anticuerpo 4B11, el anticuerpo 8B11, el anticuerpo 38B1, el anticuerpo 15E6, el anticuerpo 5E12, el anticuerpo 41B10, y sus variantes. Las variantes de estos anticuerpos incluyen el anticuerpo 30D12BF (una variante del anticuerpo 30D12 que tiene una región variable de cadena pesada modificada), el anticuerpo 39F12A (una variante del anticuerpo 39F12 que tiene una región variable de cadena pesada modificada), y el anticuerpo 15E6FK (una variante del anticuerpo 15E6 que tiene una región variable de cadena ligera modificada). En forma alternativa, el anticuerpo monoclonal es un anticuerpo que se une al mismo epítipo que el anticuerpo 30D12, el anticuerpo 29D8, el anticuerpo 1E4, el anticuerpo 31A3, el anticuerpo 39F12, el anticuerpo 12B12, el anticuerpo 15B7, el anticuerpo 4H11, el anticuerpo 4B11, el anticuerpo 8B11, el anticuerpo 38B1, el anticuerpo 15E6, el anticuerpo 5E12, el anticuerpo 41B10, y las variantes de los mismos, incluyendo el anticuerpo 30D12BF, el anticuerpo 39F12A y el anticuerpo 15E6FK. Cada uno de estos anticuerpos es, respectivamente, referido en este documento como anticuerpos "hulL-17A/F". Los anticuerpos hulL-17A/F incluyen los anticuerpos monoclonales totalmente humanos, así como anticuerpos monoclonales humanizados y anticuerpos quiméricos. Preferiblemente, los anticuerpos son IgG1.

Estos anticuerpos muestran especificidad para la IL-17F humana, la IL-17A y/o el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, y han sido demostrados para inhibir la IL-17F, la IL-17A y/o la producción de citoquina mediada por IL-17A/IL-17F. Estos anticuerpos tienen especificidades distintas. En algunas modalidades, los anticuerpos hulL-17A/F de la invención se unen específicamente tanto a la IL-17F como a la IL-17A solas (es decir, cuando no forman juntas un complejo). En algunas modalidades, los anticuerpos hulL-17A/F de la invención se unen específicamente a la IL-17F, al homodímero de IL-17F, y al

complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F. En algunas modalidades, los anticuerpos huIL-17A/F de la invención se unen específicamente a la IL-17F, al homodímero de IL-17F, a la IL-17A, al homodímero de IL-17A, y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F. Por ejemplo, el 30D12, 29D8, 1E4, 31A3, 39F12, 12B12, 15B7, 4H11, 38B1, 15E6, 30D12BF, 4B11, 15E6FK y 39F12A se unen a la IL-17F y tienen reactividad cruzada con la IL-17A, y estos anticuerpos también se unen al complejo heterodimérico IL-17A/IL-17F. Los anticuerpos 5E12 y 41B10 se unen a la IL-17F y al homodímero de IL-17F, pero no se unen a la IL-17A o al homodímero de IL-17A. El anticuerpo 41B10 también se une al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.

Los anticuerpos totalmente humanos de la invención contienen una región variable de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de ID SEC NOs: 2, 6, 8, 10, 14, 18, 20, 24, 28, 32, 34, 38, 44, 48, 52 y 54. Los anticuerpos totalmente humanos de la invención contienen una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de ID SEC NOs: 4, 12, 16, 22, 26, 30, 36, 40, 46 y 56. Los tres CDRs (por sus siglas en inglés) de la cadena pesada incluyen una región CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos por lo menos del 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica a una secuencia seleccionada del grupo formado por ID SEC NOs: 57, 60, 66, 69, 76, 79, 82, 85 y 90; una región CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos por lo menos del 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica a una secuencia seleccionada del grupo formado por ID SEC NOs: 58, 61, 63, 65, 67, 70, 72, 74, 77, 80, 83, 86, 88, 91, 93 y 94; y una región CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos por lo menos del 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica a una secuencia seleccionada del grupo formado por ID SEC NOs: 59, 62, 64, 68, 71, 73, 75, 78, 81, 84, 87, 89, 92 y 95. Los tres CDRs de cadena ligera incluyen una región CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos por lo menos del 90%, 92%, 95%, 97% al 98%, 99% o más idéntica a una secuencia seleccionada del grupo formado por ID SEC NOs: 96, 101, 104, 107 y 110; una región CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos por lo menos del 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica a una secuencia seleccionada del grupo formado por ID SEC NOs: 97, 102, 105 y 108; y una región CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos por lo menos del 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica a una secuencia seleccionada del grupo formado por ID SEC NOs: 98, 99, 100, 103, 106, 109, 111, 112 y 113.

Los anticuerpos de la invención que se unen específicamente a la IL-17F, a la IL-17A y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F reconocen y se unen a un epítipo que es compartido por la IL-17F y la IL-17A. Los anticuerpos de la invención se unen específicamente al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, en donde el anticuerpo se une a un epítipo que incluye uno o más residuos de aminoácidos en la IL-17F humana, en la IL-17A o ambas. Los anticuerpos de la invención inmuno-específicamente se unen a la IL-17F en donde el anticuerpo se une a un epítipo que incluye uno o más residuos de aminoácidos en la IL-17F humana. Los anticuerpos de la invención se unen

específicamente a la IL-17A en donde el anticuerpo se une a un epítipo que incluye uno o más residuos de aminoácidos en la IL-17F humana, en la IL-17A o ambas.

Los anticuerpos huIL-17A/F se unen a un epítipo común que se encuentra tanto en el homodímero de IL-17F, como en el homodímero de IL-17A y en el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F. A diferencia de los anticuerpos que se unen a un epítipo en la interfaz, o por otra parte, pasan por encima del complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, los anticuerpos huIL-17A/F específicamente se unen al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F y también reconocen y se unen a la IL-17F y a la IL-17A cuando no forman juntas un complejo. Por lo tanto, los anticuerpos huIL-17A/F no requieren la formación del complejo de IL-17A/IL-17F para reconocer la IL-17F y/o la IL-17A.

Los anticuerpos huIL-17A/F muestran una capacidad de neutralizar e inhibir una o más funciones biológicas de la IL-17F, de la IL-17A y/o del complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F. Los anticuerpos huIL-17A/F son capaces de unirse a cada IL-17F, incluyendo el homodímero de IL-17F, IL-17A incluyendo el homodímero de IL-17A y el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.

Los anticuerpos huIL-17A/IL-17F se unen al homodímero de IL-17A, al homodímero de IL-17F y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, y estos anticuerpos muestran (i) una afinidad de unión de por lo menos 100 pM o menos contra el homodímero de IL-17A, (ii) una afinidad de unión de por lo menos 300 pM o menos contra el homodímero de IL-17F, (iii) una afinidad de unión de por lo menos 400 pM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, (iv) una capacidad de neutralización de por lo menos 13 nM o menos contra el homodímero de IL-17A, (v) una capacidad de neutralización de por lo menos 120 nM o menos contra el homodímero IL-17F, y (vi) una capacidad de neutralización de por lo menos 31 nM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.

En algunas modalidades, los anticuerpos huIL-17A/IL-17F se unen al homodímero de IL-17A, al homodímero de IL-17F y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, y estos anticuerpos muestran (i) una afinidad de unión de por lo menos 40 pM o menos contra el homodímero de IL-17A, (ii) una afinidad de unión de por lo menos 10 pM o menos contra el homodímero de IL-17F, y (iii) una afinidad de unión de por lo menos 50 pM o menos contra el heterodímero de IL-17A/IL-17F.

En algunas modalidades, los anticuerpos huIL-17A/IL-17F se unen al homodímero de IL-17A, al homodímero de IL-17F y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, y estos anticuerpos muestran (i) una afinidad de unión de por lo menos 15 pM o menos contra el homodímero de IL-17A, (ii) una afinidad de unión de por lo menos 10 pM o menos contra el homodímero de IL-17F, y (iii) una afinidad de unión de por lo menos 30 pM o menos contra el heterodímero de IL-17A/IL-17F.

En algunas modalidades, los anticuerpos huIL-17A/IL-17F se unen al homodímero de IL-

12

17A, al homodímero de IL-17F y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, y estos anticuerpos muestran (iv) una capacidad de neutralización de por lo menos 13 nM o menos contra el homodímero de IL-17A, (v) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.9 nM o menos contra el homodímero IL-17F, y (vi) una capacidad de neutralización de por lo menos 11 nM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.

En algunas modalidades, los anticuerpos huIL-17A/IL-17F se unen al homodímero de IL-17A, al homodímero de IL-17F y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, y estos anticuerpos muestran (iv) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.6 nM o menos contra el homodímero de IL-17A, (v) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.7 nM o menos contra el homodímero de IL-17F, y (vi) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.1 nM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.

En algunas modalidades, los anticuerpos huIL-17A/IL-17F se unen al homodímero de IL-17A, al homodímero de IL-17F y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, y estos anticuerpos muestran (iv) una capacidad de neutralización de por lo menos 0.2 nM o menos contra el homodímero de IL-17A, (v) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.2 nM o menos contra el homodímero de IL-17F, y (vi) una capacidad de neutralización de por lo menos 0.2 nM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.

Los anticuerpos huIL-17A/F tienen las siguientes características:

Afinidad de unión (pm):

	Todos* los anticuerpos huIL-17A/F	15E6	15E6FK
Homodímero de IL-17A	100	40	15
Homodímero de IL-17F	300	10	10
Heterodímero de IL-17A/IL-17F	400	50	30

* Todos los anticuerpos se refieren a los siguientes anticuerpos huIL-17A/F: 15E6, 15E6FK, 30D12, 30D12BF, 39F12, 39F12A y 29E8.

Capacidad de neutralización (nM), según medición utilizando el ensayo celular MEF:

	Todos* los anticuerpos huIL-17A/F	Todos* los anticuerpos huIL-17A/F, excepto 30D12	15E6	15E6FK
Homodímero de IL-17A	13	13	1.6	0.2
Homodímero de IL-17F	120	1.9	1.7	1.2
Heterodímero de IL-17A/IL-17F	31	11	1.1	0.2

* Todos los anticuerpos se refieren a los siguientes anticuerpos huIL-17A/F: 15E6, 15E6FK, 30D12, 30D12BF, 39F12, 39F12A y 29E8.

La afinidad de unión, como referida en este documento, fue determinada utilizando los ensayos aquí descritos, por ejemplo, en el Ejemplo 5. La habilidad de neutralización, como referida en este documento, fue determinada utilizando los ensayos celulares de fibroblastos embrionarios de ratón aquí descritos, por ejemplo, en el Ejemplo 7.

5 En una modalidad preferida, los anticuerpos hIL-17A/IL-17F se unen al homodímero de IL-17A, al homodímero de IL-17F y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, y estos anticuerpos muestran (i) una afinidad de unión de por lo menos 40 pM o menos contra el homodímero de IL-17A, (ii) una afinidad de unión de por lo menos 10 pM o menos contra el homodímero de IL-17F, (iii) una afinidad de unión de por lo menos 50 pM o menos
10 contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, (iv) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.6 nM o menos contra el homodímero de IL-17A, (v) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.7 nM o menos contra el homodímero de IL-17F, y (vi) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.1 nM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.

15 En una modalidad más preferida, los anticuerpos hIL-17A/IL-17F se unen al homodímero de IL-17A, al homodímero de IL-17F y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, y estos anticuerpos muestran (i) una afinidad de unión de por lo menos 15 pM o menos contra el homodímero de IL-17A, (ii) una afinidad de unión de por lo menos 10 pM o menos contra el homodímero de IL-17F, (iii) una afinidad de unión de por lo menos 30 pM
20 o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, (iv) una capacidad de neutralización de por lo menos 0.2 nM o menos contra el homodímero de IL-17A, (v) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.2 nM o menos contra el homodímero de IL-17F, y (vi) una capacidad de neutralización de por lo menos 0.2 nM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.

25 En una modalidad preferida, el anticuerpo hIL-17A/IL-17F es el anticuerpo 15E6 o un anticuerpo que se une al mismo epítipo que el anticuerpo 15E6 o por otra parte compite de forma cruzada con el sitio de unión del anticuerpo 15E6. En una modalidad más preferida, el anticuerpo hIL-17A/IL-17F es el anticuerpo 15E6FK o un anticuerpo que se une al mismo epítipo que el anticuerpo 15E6 o por otra parte compite con el sitio de unión
30 del anticuerpo 15E6FK. En una modalidad mucho más preferida, el anticuerpo hIL-17A/IL-17F tiene la afinidad de unión y las condiciones de neutralización descritas anteriormente, y se une al mismo epítipo que el anticuerpo 15E6 o por otra parte compite con el sitio de unión del anticuerpo 15E6.

Preferiblemente, los anticuerpos hIL-17A/IL-17F se unen al mismo epítipo que el anticuerpo 15E6 o por otra parte compite con el sitio de unión del anticuerpo 15E6, y los anticuerpos hIL-17A/IL-17F también se unen al homodímero de IL-17A, al homodímero de IL-17F y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, y estos anticuerpos muestran (i)
35 una afinidad de unión de por lo menos 40 pM o menos contra el homodímero de IL-17A, (ii) una afinidad de unión de por lo menos 10 pM o menos contra el homodímero de IL-17F, (iii) una afinidad de unión de por lo menos 50 pM o menos contra el complejo
40 17F, (iii) una afinidad de unión de por lo menos 50 pM o menos contra el complejo

14

heterodimérico de IL-17A/IL-17F, (iv) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.6 nM o menos contra el homodímero de IL-17A, (v) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.7 nM o menos contra el homodímero de IL-17F, y (vi) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.1 nM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.

Preferiblemente, los anticuerpos huIL-17A/IL-17F se unen al mismo epítipo que el anticuerpo 15E6FK o por otra parte compiten con el sitio de unión del anticuerpo 15E6FK, y los anticuerpos huIL-17A/IL-17F también se unen al homodímero de IL-17A, al homodímero de IL-17F y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, y estos anticuerpos muestran (i) una afinidad de unión de por lo menos 15 pM o menos contra el homodímero de IL-17A, (ii) una afinidad de unión de por lo menos 10 pM o menos contra el homodímero de IL-17F, (iii) una afinidad de unión de por lo menos 30 pM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, (iv) una capacidad de neutralización de por lo menos 0.2 nM o menos contra el homodímero de IL-17A, (v) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.2 nM o menos contra el homodímero IL-17F, y (vi) una capacidad de neutralización de por lo menos 0.2 nM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.

Los anticuerpos de la invención también incluyen anticuerpos totalmente humanos que específicamente se unen a la IL-17F, IL-17A y/o a la IL-17A/IL-17F, en donde los anticuerpos muestran una inhibición superior a 50% de la producción de citoquinas pro-inflamatorias *in vitro* mediada por IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F. Por ejemplo, los anticuerpos de la presente invención muestran una inhibición superior a 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98% o 99% de la secreción de IL-6 mediante células estimuladas de IL-17. Tal como se utiliza en este documento, el término "citoquinas pro-inflamatorias" se refiere a las citoquinas inmunorreguladoras que promueven la inflamación y/o están asociados con la inflamación. Las citoquinas y quimioquinas pro-inflamatorias incluyen, por ejemplo, la IL-6, IL-8, G-CSF y GM-CSF. Las quimioquinas pro-inflamatorias incluyen, por ejemplo, GRO- α , GRO-b, LIX, GCP-2, MIG, IP10, I-TAC y MCP-1, RANTES, Eotaxina, SDF-1 y MIP3a.

La presente invención también proporciona métodos de tratamiento o prevención de patologías asociadas a la actividad anormal de IL-17, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F (por ejemplo, la producción anormal de citoquinas pro-inflamatorias tal como la producción anormal de IL-6), o para aliviar un síntoma asociado con tales patologías, mediante la administración de un anticuerpo monoclonal de la invención (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal totalmente humano) a un sujeto para el cual se desea dicho tratamiento o prevención. El sujeto a ser tratado es, por ejemplo, humano. El anticuerpo monoclonal es administrado en una cantidad suficiente para tratar, prevenir o aliviar un síntoma asociado a la patología. La cantidad de anticuerpo monoclonal suficiente para tratar o prevenir la patología en el sujeto es, por ejemplo, una cantidad que es suficiente para reducir la señalización de IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F (por ejemplo, la producción inducida de

IL-17F de una o más citoquinas pro-inflamatorias (por ejemplo, la IL-6)). Tal como se utiliza en este documento, el término "reducción" se refiere a una disminución en la producción de citoquinas pro-inflamatorias en la presencia de un anticuerpo monoclonal de la invención, en donde la producción es, por ejemplo, una producción local de citoquinas pro-inflamatorias (por ejemplo, en un sitio de tejido inflamado) o una producción sistémica de citoquinas pro-inflamatorias. La señalización de IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F (por ejemplo, las citoquinas pro-inflamatorias inducidas por IL-17F tal como la IL-6) es reducida cuando el nivel de producción de citoquinas pro-inflamatorias (por ejemplo, la IL-6) en la presencia de un anticuerpo monoclonal de la invención es mayor o igual al 5%, 10%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80 %, 90%, 95%, 99%, o 100% más bajo que un nivel de control de la producción de citoquinas pro-inflamatorias (es decir, el nivel de la producción de citoquinas pro-inflamatorias en ausencia del anticuerpo monoclonal). El nivel de producción de citoquinas pro-inflamatorias (por ejemplo, la IL-6) es medido, por ejemplo, mediante los ensayos celulares de fibroblastos embrionarios de ratón (MEF) estimulados por la IL-17 descritos en este documento. Los expertos en el arte podrán apreciar que el nivel de la producción de citoquinas pro-inflamatorias puede ser medido utilizando una variedad de ensayos, incluyendo, por ejemplo, kits de ELISA disponibles comercialmente.

Las patologías tratadas y/o prevenidas utilizando los anticuerpos monoclonales de la invención (por ejemplo, el anticuerpo monoclonal totalmente humano), incluyen, por ejemplo, la inflamación aguda, la inflamación crónica (por ejemplo, la inflamación crónica asociada con condiciones alérgicas y asma), las enfermedades autoinmunes (por ejemplo, enfermedad de Crohn, la esclerosis múltiple), la enfermedad inflamatoria intestinal, y el rechazo de trasplante.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden incluir un anticuerpo de la invención y un portador. Estas composiciones farmacéuticas pueden ser incluidas en kits, tales como, por ejemplo, kits de diagnóstico.

La presente invención también proporciona proteínas solubles de IL-17F, métodos para expresar las proteínas de IL-17F, y métodos para la purificación de tales proteínas en una forma soluble.

En algunas modalidades, la patología a ser tratada es uno o más trastornos autoinmunes de enfermedades inflamatorias y cáncer. Por ejemplo, sin limitación, la patología es la artritis reumatoide, la enfermedad de Crohn, la psoriasis, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica de esclerosis múltiple, el asma, la angiogénesis y el cáncer.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden incluir un anticuerpo de la invención y un portador. Estas composiciones farmacéuticas pueden ser incluidas en kits, tales como, por ejemplo, kits de diagnóstico.

Los expertos en el arte apreciarán que los anticuerpos de la invención tienen una variedad de usos. Por ejemplo, las proteínas de la invención son utilizadas como agentes

terapéuticos para prevenir la activación del receptor de IL-17 y/o complejos receptores de IL-17 en trastornos como, por ejemplo, la artritis reumatoide, la enfermedad de Crohn, la psoriasis, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica de esclerosis múltiple, el asma, la angiogénesis y el cáncer. Los anticuerpos de la invención también son utilizados como reactivos en kits de diagnóstico o como herramientas de diagnóstico, o estos anticuerpos pueden ser utilizados en ensayos de competición para generar reactivos terapéuticos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención proporciona anticuerpos monoclonales que específicamente se unen a la IL-17F. La invención proporciona además anticuerpos monoclonales que específicamente se unen a la IL-17F y la IL-17A cuando no forman juntas un complejo (es decir, anticuerpos monoclonales con reactividad cruzada). La invención proporciona además anticuerpos monoclonales que específicamente se unen a la IL-17F y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F (también denominado en este documento como el heterodímero de IL-17A/IL-17F). La presente invención proporciona aún más anticuerpos monoclonales con reactividad cruzada que se unen a la IL-17F, a la IL-17A y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F. Estos anticuerpos son colectivamente denominados como anticuerpos "hull-17A/F". El anticuerpo es, por ejemplo, un anticuerpo totalmente humano.

Los anticuerpos de la invención específicamente se unen a la IL-17F, en donde el anticuerpo se une a un epítipo que incluye uno o más residuos de aminoácidos de la IL-17F humana. Los anticuerpos de la invención específicamente se unen tanto a la IL-17F como a la IL-17A en donde el anticuerpo se une a un epítipo que incluye uno o más residuos de aminoácidos de la IL-17F humana, de la IL-17A humana, o ambas. Los anticuerpos de la invención específicamente se unen tanto a la IL-17F como al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F en donde el anticuerpo se une a un epítipo que incluye uno o más residuos de aminoácidos de la IL-17F humana, de la IL-17A o ambas.

Los anticuerpos de la presente invención se unen a un epítipo de IL-17F y/o a un epítipo de IL-17A con una constante de equilibrio de unión (K_d) de $\leq 1 \mu\text{M}$, por ejemplo, $\leq 100 \text{ nM}$, preferiblemente $\leq 10 \text{ nM}$, y más preferiblemente $\leq 1 \text{ nM}$. Por ejemplo, los anticuerpos hull-17A/F proporcionados en este documento muestran un K_d en el rango de aproximadamente entre $\leq 1 \text{ nM}$ a aproximadamente 1 pM .

La estructura cristalina de la IL-17F revela que la proteína adopta un pliegue con nudo de cisteína, lo que sugiere una relación con la superfamilia de nudo de cisteína de las proteínas. Sin embargo, el motivo del nudo de cisteína de IL-17F sólo utiliza cuatro cisteínas en lugar de las clásicas seis cisteínas para formar el nudo. Al igual que otros miembros de la familia de nudo de cisteína, la IL-17F también existe como un heterodímero con la IL-17A. Se cree que el heterodímero de IL-17A/IL-17F señala a través de la IL-17R y/o del complejo multimérico de IL-17R/IL-17RC. Una evidencia reciente ha demostrado que los mismos residuos de cisteína que son utilizados en la

h

formación del heterodímero de IL-17A/IL-17F son las mismas cisteínas utilizadas en la formación del homodímero de IL-17F. Estos datos sugieren que el receptor para el homodímero de IL-17F o el heterodímero de IL-17A/IL-17F puede unirse a los residuos de cisteína conservados en la interfaz de dímero, al igual que otras proteínas de la familia de nudo de cisteína.

Numerosas funciones regulatorias inmunes han sido reportadas para la familia de IL-17 de las citoquinas, presumiblemente debido a su inducción de muchas moléculas de señalización inmune. La IL-17A y la IL-17F comparten funciones biológicas muy similares. Ambas promueven la secreción de citoquinas pro-inflamatorias (por ejemplo, IL-6, IL-8, G-CSF y GM-CSF), quimioquinas (por ejemplo, GRO- α , GRO-b, LIX, GCP-2, MIG, IP10, I-TAC, y MCP-1, RANTES, Eotaxina, SDF-1, y MIP3a) y de prostaglandinas (por ejemplo, PGE₂) de una amplia variedad de células incluyendo los fibroblastos, los queratinocitos, los macrófagos, las células epiteliales y las células endoteliales. Ambas han sido mostradas también para regular el recambio de la matriz del cartílago. La IL-17F tiene también funciones biológicas diferentes de la IL-17A, tales como la capacidad de estimular la proliferación y la activación de células T y células mononucleares de sangre periférica (PBMCs, por sus siglas en inglés), y para inhibir la angiogénesis.

Los anticuerpos huIL-17A/F de la invención sirven para modular, bloquear, inhibir, reducir, antagonizar, neutralizar o por otra parte interferir con la actividad biológica de la IL-17F, la IL-17A y/o el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F. Las actividades biológicas de la IL-17F, la IL-17A y/o IL-17A/IL-17F incluyen, por ejemplo, la unión de la IL-17R, la IL-17RC y/o del complejo receptor multimérico de IL-17R/IL-17RC, y la inducción de citoquinas y/o la expresión de quimioquinas (por ejemplo, IL-6, IL-8, G-CSF, GM-CSF, GRO- α , GRO-b, LIX, GCP-2, MIG, IP10, I-TAC, y MCP-1, RANTES, Eotaxina, SDF-1, y MIP3a) en las células diana. Por ejemplo, los anticuerpos huIL-17A/F inhiben totalmente o parcialmente la IL-17F, la IL-17A y/o la actividad biológica de la IL-17A/IL-17F mediante la parcial o total modulación, bloqueo, inhibición, reducción, antagonización, neutralización, o por otra parte interfieren con la unión de la IL-17F, la IL-17A y/o IL-17A/IL-17F a sus receptores, o por otra parte parcial o totalmente modulan, bloquean, inhiben, reducen, antagonizan, neutralizan la actividad de señalización de la IL-17F, de la IL-17A y/o del complejo IL-17A/IL-17F.

Los anticuerpos huIL-17A/F son considerados para totalmente modular, bloquear, inhibir, reducir, antagonizar, neutralizar o por otra parte interferir con la actividad biológica de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F cuando el nivel de la actividad de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F en la presencia del anticuerpo de IL-17F es reducida en por lo menos 95%, por ejemplo, en 96%, 97%, 98%, 99% o 100% en comparación con el nivel de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F en ausencia de la unión con un anticuerpo de IL-17F descrito en este documento. Los anticuerpos huIL-17A/F son considerados para parcialmente modular, bloquear, inhibir, reducir, antagonizar, neutralizar o por otra parte interferir con la actividad de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F cuando el nivel de la actividad de la IL-

17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F en la presencia del anticuerpo de IL-17F es reducida en menos de 95%, por ejemplo, de 10%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 75%, 80%, 85% o 90% en comparación con el nivel de la actividad de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F en ausencia de unión con un anticuerpo de IL-17F descrito en este documento.

- 5 Los anticuerpos hIL-17A/F de reactividad cruzada son considerados para totalmente modular, bloquear, inhibir, reducir, antagonizar, neutralizar o interferir con la actividad de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F cuando el nivel de actividad de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F en la presencia del anticuerpo de IL-17F es reducida en por lo menos 95%, por ejemplo, en 96%, 97%, 98%, 99% o 100% en comparación con el nivel de actividad de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F en ausencia de la unión con un anticuerpo de IL-17F descrito en este documento. Los anticuerpos IL-17F de reactividad cruzada son considerados para parcialmente modular, bloquear, inhibir, reducir, antagonizar, neutralizar o por otra parte interferir con la actividad de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F cuando el nivel de actividad de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F en la presencia del anticuerpo de IL-17F es reducida en menos de 95%, por ejemplo, de 10%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 75%, 80%, 85% o 90% en comparación con el nivel de actividad de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F en ausencia de la unión con un anticuerpo de IL-17F descrito en este documento.

Definiciones

- 20 A menos que se indique lo contrario, los términos científicos y técnicos utilizados en relación con la presente invención deberán tener el significado que sea normalmente entendido por los expertos en el arte. Además, a menos que sea requerido por el contexto, los términos singulares deberán incluir pluralidades y los términos en plural deberán incluir el singular. En general, las nomenclaturas utilizadas en relación con el, y técnicas de, cultivo de células y tejidos, la biología molecular, las proteínas y química oligo- o polinucleótida y la hibridación descritos en este documento son los bien conocidos y normalmente utilizados en el arte. Las técnicas estándares son utilizadas para el ADN recombinante, la síntesis de oligonucleótidos y el cultivo y transformación de tejidos (por ejemplo, la electroporación, la lipofección). Las reacciones enzimáticas y técnicas de purificación son realizadas de acuerdo a las especificaciones del fabricante o como normalmente son logradas en el arte o como se describe en este documento. Las técnicas y procedimientos anteriores son generalmente ejecutadas de acuerdo a los métodos convencionales bien conocidos en el arte y tal como se describen en varias referencias generales y más específicas que son citadas y discutidas a lo largo de la presente especificación. Véase por ejemplo, Sambrook et al. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)). Las nomenclaturas utilizadas en relación con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, la química analítica, la química orgánica sintética, y la química médica y farmacéutica descritas en este documento son las bien conocidas y normalmente utilizadas en el arte. Las técnicas estándares son utilizadas para síntesis química, análisis

químicos, preparación farmacéutica, formulación, y reparto, y para tratamiento de pacientes.

Tal como se utilizan de acuerdo con la presente divulgación, los siguientes términos, a menos que se indique lo contrario, se entenderán que tienen los siguientes significados:

5 Tal como se utiliza en la presente divulgación, los términos Interleuquina-17A, IL-17A, IL17A, IL-17, IL17, CTLA8, CTLA-8, antígeno asociado al linfocito T citotóxico 8 y precursor de Interleuquina-17A son sinónimos y pueden ser utilizados indistintamente. Cada uno de estos términos se refiere a la proteína homodimérica, excepto cuando se indique lo contrario.

10 Tal como se utiliza en este documento, los términos Interleuquina-17F, IL-17F, IL17F, ML-1, ML1, Interleuquina-24, IL-24, IL24 y precursor de Interleuquina-17F son sinónimos y pueden ser utilizados indistintamente. Cada uno de estos términos se refiere a la proteína homodimérica, excepto cuando se indique lo contrario.

15 Tal como se utiliza en este documento, el término "anticuerpo" se refiere a las moléculas de inmunoglobulina y a las porciones activas inmunológicamente de las moléculas de inmunoglobulina (Ig), es decir, moléculas que contienen un sitio de unión al antígeno que específicamente se une (inmunoreacciona con) a un antígeno. Por "específicamente se une" o "inmunoreacciona con" o "direccionado contra", se entiende que el anticuerpo reacciona con uno o más determinantes antigénicos del antígeno deseado y no reacciona
20 con otros polipéptidos o se une a una afinidad mucho más baja ($K_d > 10^{-6}$). Los anticuerpos incluyen, pero no están limitados a, policlonales, monoclonales, quiméricos, dAb (anticuerpo de dominio), cadena sencilla, fragmentos F_{ab} , F_{ab}' y $F_{(ab)2}$, scFvs, y una biblioteca de expresión de F_{ab} .

25 Se conoce que la unidad estructural básica del anticuerpo comprende un tetrámero. Cada tetrámero es compuesto de dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, cada par tiene una cadena "ligera" (cerca de 25 kDa) y una "pesada" (alrededor de 50-70 kDa). La porción amino-terminal de cada cadena incluye una región variable de alrededor de 100 a 110 o más aminoácidos principalmente responsables por el reconocimiento de antígenos. La porción carboxi-terminal de cada cadena define una región constante principalmente
30 responsable por la función efectora. En general, las moléculas de anticuerpos obtenidas de humanos se relacionan con cualquiera de las clases de IgG, IgM, IgA, IgE e IgD, que se diferencian entre sí por la naturaleza de la cadena pesada presente en la molécula. Algunas clases tienen subclases también, tal como la IgG₁, IgG₂, y otros. Además, en humanos, la cadena ligera puede ser una cadena kappa o una cadena lambda.

35 El término "anticuerpo monoclonal" (MAb) o "composición de anticuerpo monoclonal", como se utiliza en este documento, se refiere a una población de moléculas de anticuerpo que contienen una sola especie molecular de la molécula de anticuerpo que consiste de un producto del gen de cadena ligera único y un producto del gen de cadena pesada único. En particular, las regiones determinantes de la complementariedad (CDR, por sus

siglas en inglés) del anticuerpo monoclonal son idénticas en todas las moléculas de la población. Los MAbs contienen un sitio de unión al antígeno capaz de una inmunoreacción con un epítipo particular del antígeno caracterizado por una afinidad de unión única por él.

5 En general, las moléculas de anticuerpos obtenidas de humanos se relacionan con cualquiera de las clases de IgG, IgM, IgA, IgE e IgD, que se diferencian entre sí por la naturaleza de la cadena pesada presente en la molécula. Algunas clases tienen subclases también, tal como la IgG₁, IgG₂, y otros. Además, en humanos, la cadena ligera puede ser una cadena kappa o una cadena lambda.

10 El término "sitio de unión al antígeno" o "porción de unión" se refiere a la parte de la molécula de inmunoglobulina que participa en la unión del antígeno. El sitio de unión al antígeno está formado por residuos de aminoácidos de las regiones variables ("V") N-terminal de las cadenas pesada ("H") y ligera ("L"). Tres tramos altamente divergentes dentro de las regiones V de las cadenas pesadas y ligeras, referidas como "regiones hipervariables", se interponen entre tramos flanqueados más conservados conocidos como "regiones marco", o "FRs" (por sus siglas en inglés). Así, el término "FR" se refiere a las secuencias de aminoácidos que se encuentran naturalmente entre, y adyacente a, las regiones hipervariables en las inmunoglobulinas. En una molécula de anticuerpo, las tres regiones hipervariables de una cadena ligera y las tres regiones hipervariables de una

15 cadena pesada están dispuestas en relación con cada una de las demás en un espacio tridimensional para formar una superficie de unión al antígeno. La superficie de unión al antígeno es complementaria a la superficie tridimensional de un antígeno vinculado, y las tres regiones hipervariables de cada una de las cadenas pesadas y ligeras se conocen como "regiones determinantes de la complementariedad", o "CDRs". La asignación de los

20 aminoácidos a cada dominio es de conformidad con las definiciones de *Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991)), o de *Chothia & Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)*, *Chothia et al. Nature 342:878-883 (1989)*.

Tal como se utiliza en este documento, el término "epítipo" incluye cualquier proteína determinante capaz de una unión específica a una inmunoglobulina o un fragmento de la misma, o a un receptor de células T. El término "epítipo" incluye cualquier proteína determinante capaz de una unión específica a una inmunoglobulina o receptor de células T. Las determinantes epitópicas por lo general consisten en agrupaciones de moléculas con superficie activa químicamente tales como los aminoácidos o cadenas laterales de

30 azúcar y normalmente tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características específicas de carga. Se dice que un anticuerpo específicamente se une a un antígeno cuando la constante de disociación es $\leq 1 \mu\text{M}$, por ejemplo, $\leq 100 \text{ nM}$, preferiblemente $\leq 10 \text{ nM}$ y más preferiblemente $\leq 1 \text{ nM}$.

Tal como se utiliza en este documento, los términos "unión inmunológica", y "propiedades de unión inmunológica" se refieren a las interacciones no-covalentes del tipo que se

40

producen entre una molécula de inmunoglobulina y un antígeno para el que la inmunoglobulina es específica. La fuerza, o afinidad, de las interacciones de unión inmunológica puede ser expresada en términos de la constante de disociación (K_d) de la interacción, en donde una pequeña K_d representa una mayor afinidad. Las propiedades de unión inmunológica de polipéptidos seleccionados pueden ser cuantificadas mediante métodos bien conocidos en el arte. Uno de estos métodos implica la medición de las velocidades de formación y disociación del complejo antígeno-sitio de unión/antígeno, en donde esas velocidades dependen de las concentraciones de las parejas del complejo, de la afinidad de la interacción, y de los parámetros geométricos que igualmente influyen en la velocidad en ambas direcciones. Así, tanto "la constante de velocidad de asociación" (K_{on}) como "la constante de velocidad de disociación" (K_{off}) pueden ser determinadas mediante el cálculo de las concentraciones y las velocidades reales de la asociación y disociación. (Véase *Nature* 361:186-87 (1993)). El cociente de K_{off}/K_{on} permite la cancelación de todos los parámetros no relacionados con la afinidad, y es igual a la constante de disociación K_d . (Véase, en general, Davies et al. (1990) *Annual Rev Biochem* 59:439-473). Se dice que un anticuerpo de la presente invención específicamente se une al homodímero de IL-17F, homodímero IL-17A y/o heterodímero IL-17A/IL-17F, cuando la constante de equilibrio de unión (K_d) es $\leq 1 \mu\text{M}$, preferiblemente $\leq 100 \text{ nM}$, más preferiblemente $\leq 10 \text{ nM}$, y mucho más preferiblemente $100 \leq \text{pM}$ hasta alrededor de 1 pM , según lo medido por ensayos tales como los ensayos de unión de radioligando o ensayos similares conocidos por los expertos en el arte.

El término "polinucleótido aislado" como se utiliza en este documento deberá ser entendido como un polinucleótido del ADNc genómico, o de origen sintético o alguna combinación de los mismos, que en virtud de su origen el "polinucleótido aislado" (1) no está asociado con la totalidad o una parte de un polinucleótido en el que el "polinucleótido aislado" se encuentra en la naturaleza, (2) está vinculado operativamente a un polinucleótido que no está vinculado a la naturaleza, o (3) no se produce en la naturaleza como parte de una secuencia más grande. Los polinucleótidos de conformidad con la invención incluyen las moléculas de ácido nucleico que codifican las moléculas de inmunoglobulina de cadena pesada que se presentan en las SEC ID NOS.: 2, 6, 8, 10, 14, 18, 20, 24, 28, 32, 34, 38, 44, 48 o 54 y las moléculas de ácido nucleico que codifican las moléculas de inmunoglobulina de cadena ligera representadas en las SEC ID NOS.: SEC ID NOS.: 4, 12, 16, 22, 26, 30, 36, 40, 46 o 56.

El término "proteína aislada" a que se refiere este documento significa proteína del ADNc, el ARN recombinante, o de origen sintético o alguna combinación de los mismos, que en virtud de su origen, o fuente de derivación, la "proteína aislada" (1) no es asociada con proteínas encontradas en la naturaleza, (2) es libre de otras proteínas del mismo origen, por ejemplo, libre de proteínas marinas, (3) es expresada por una célula de diferentes especies, o (4) no se produce en la naturaleza.

El término "polipéptido" se utiliza en este documento como un término genérico para

92

referirse a la proteína nativa, fragmentos, o análogos de una secuencia polipeptídica. Por consiguiente, los fragmentos de la proteína nativa, y los análogos son especies del género polipéptido. Los polipéptidos de acuerdo con la invención comprenden moléculas de inmunoglobulina de cadena pesada representadas en las SEC ID NOS.: 2, 6, 8, 10, 14, 18, 20, 24, 28, 32, 34, 38, 44, 48 o 54 y moléculas de inmunoglobulina de cadena ligera representadas en las SEC ID NOS.: SEC ID NOS.: 4, 12, 16, 22, 26, 30, 36, 40, 46, 50 o 56, así como moléculas de anticuerpos formadas por combinaciones que comprenden moléculas de inmunoglobulina de cadena pesada con moléculas de inmunoglobulina de cadena ligera, tales como las moléculas de inmunoglobulina de cadena ligera kappa, y viceversa, así como fragmentos y análogos de las mismas.

El término "de origen natural" como se utiliza en este documento tal como se aplica a un objeto, hace referencia al hecho de que un objeto puede ser encontrado en la naturaleza. Por ejemplo, una secuencia de polipéptido o polinucleótido que está presente en un organismo (incluyendo los virus), que puede ser aislado de una fuente en la naturaleza y que no haya sido intencionalmente modificado por el hombre en el laboratorio o por otra parte es de origen natural.

El término "vinculado operativamente" como se utiliza en este documento, se refiere a que las posiciones de los componentes así descritos están en una relación que les permite funcionar en su forma pretendida. Una secuencia de control "vinculada operativamente" a una secuencia codificante está ligada de tal manera que la expresión de la secuencia de codificación es alcanzada bajo condiciones compatibles con las secuencias de control.

El término "secuencia de control" como se utiliza en este documento, se refiere a las secuencias de polinucleótido que son necesarias para lograr la expresión y el procesamiento de las secuencias de codificación a las que están ligadas. La naturaleza de tales secuencias de control difiere en función del organismo huésped en procariotas, tales secuencias de control generalmente incluyen un sitio de unión ribosomal, promotor y la secuencia de terminación de la transcripción en eucariotas, en general, tales secuencias de control incluyen promotores y secuencia de terminación de la transcripción. El término "secuencias de control" pretende incluir, como mínimo, todos los componentes cuya presencia es esencial para la expresión y procesamiento, y también puede incluir componentes adicionales cuya presencia es ventajosa, por ejemplo, la secuencia líder y las secuencias de pareja de fusión. El término "polinucleótido" a que se refiere este documento, significa un boro polimérico de nucleótidos de por lo menos 10 bases de longitud, ya sea ribonucleótidos o desoxinucleótidos o una forma modificada de cualquier tipo de nucleótidos. El término incluye formas de hebras individuales y dobles de ADN.

El término "oligonucleótido" a que se refiere este documento incluye nucleótidos de origen natural y modificados vinculados entre sí mediante enlaces de oligonucleótidos de origen natural y de origen no natural. Los oligonucleótidos son un subconjunto de polinucleótidos que generalmente comprenden una longitud de 200 bases o menos. Preferiblemente los oligonucleótidos son de 10 a 60 bases de longitud y más preferiblemente de 12, 13, 14,

15, 16, 17, 18, 19, o 20 a 40 bases de longitud. Los oligonucleótidos son normalmente de una sola hebra, por ejemplo, para sondas, aunque los oligonucleótidos pueden ser de doble hebra, por ejemplo, para uso en la construcción de un gen mutante. Los oligonucleótidos de la invención son tanto oligonucleótidos sentido como antisentido.

5 El término "nucleótidos de origen natural" a que se refiere este documento incluye desoxirribonucleótidos y ribonucleótidos. El término "nucleótidos modificados" a que se refiere este documento incluye los nucleótidos con grupos de azúcares modificados o sustituidos y similares. El término "enlaces de oligonucleótidos" a que se refiere este documento incluye enlaces de oligonucleótidos tal como fosforotioato, fosforoditioato, 10 fosforoselenoato, fosforodiselenoato, fosforoanilitioato, fosforoaniladato, fosforoamidato, y similares. Véase por ejemplo, *LaPlanche et al. Nucl. Acids Res. 14:9081 (1986)*; *Stec et al. J. Am. Chem. Soc. 106:6077 (1984)*, *Stein et al. Nucl. Acids Res. 16:3209 (1988)*, *Zon et al. Anti Cancer Drug Design 6:539 (1991)*; *Zon et al. Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, pp. 87-108 (F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England 15 (1991)); *Stec et al. U.S. Patent No. 5,151,510*; *Uhlmann and Peyman Chemical Reviews 90:543 (1990)*. Un oligonucleótido puede incluir una etiqueta para la detección, si lo desea.

El término "hibridan selectivamente" referido en este documento significa unirse específicamente y detectablemente. Los polinucleótidos, los oligonucleótidos y los 20 fragmentos de los mismos, en conformidad con la invención, hibridan selectivamente a hebras de ácido nucleico bajo condiciones de hibridación y lavado que minimizan cantidades apreciables de unión detectable a ácidos nucleicos no específicos. Las condiciones de alta severidad pueden ser utilizadas para lograr condiciones de hibridación selectiva como se conoce en el arte y se discute en este documento. En general, la 25 homología de la secuencia de ácidos nucleicos entre los polinucleótidos, los oligonucleótidos, y los fragmentos de la invención y una secuencia de ácido nucleico de interés, serán por lo menos del 80%, y más habitualmente con un aumento de homologías de preferencia de al menos 85%, 90%, 95% , el 99% y 100%. Dos secuencias de aminoácidos son homólogas si existe una identidad parcial o total entre sus secuencias. 30 Por ejemplo, la homología del 85% significa que el 85% de los aminoácidos son idénticos cuando las dos secuencias se alinean para un emparejamiento máximo. Los intervalos (en cualquiera de las dos secuencias que son emparejadas) que son permitidos en longitudes de intervalo de emparejamiento máximo de 5 o menos son preferidos, con 2 o menos siendo más preferidos. Por otra parte y de preferencia, dos secuencias de proteína 35 (o secuencias de polipéptidos derivados de ellas de por lo menos 30 aminoácidos de longitud) son homólogas, ya que este término es utilizado en este documento, si tienen una puntuación de alineación de más de 5 (en unidades de desviación estándar) utilizando el programa ALIGN con la matriz de los datos de mutación y una penalidad de intervalo de 6 o más. Véase *Dayhoff, M.O.*, en *Atlas of Protein Sequence and Structure*, 40 pp. 101-110 (Volumen 5, National Biomedical Research Foundation (1972)) y *Supplement*

2 de este volumen, pp. 1-10. Las dos secuencias o partes de las mismas son más preferiblemente homólogas si sus aminoácidos son mayores que o igual al 50% idéntico, cuando alineados óptimamente utilizando programa ALIGN. El término "corresponde a" es utilizado en este documento en el sentido de que una secuencia de polinucleótidos es
5 homóloga (es decir, es idéntica, no estrictamente evolutivamente relacionadas) a la totalidad o a una porción de una secuencia de polinucleótidos de referencia, o que una secuencia de polipéptidos es idéntica a una secuencia de polipéptido de referencia. En contraposición, el término "complementario a" es utilizado en este documento en el sentido de que la secuencia complementaria es homóloga a la totalidad o a una parte de
10 una secuencia de polinucleótidos de referencia. A título de ejemplo, la secuencia de nucleótidos "TATAC" corresponde a una secuencia de referencia "TATAC" y es complementaria a una secuencia de referencia "GTATA".

Los siguientes términos son utilizados para describir las relaciones de secuencias entre dos o más secuencias de polinucleótidos o de aminoácidos: "secuencia de referencia",
15 "ventana de comparación", "identidad de secuencia", "porcentaje de la identidad de secuencia", e "identidad sustancial". Una "secuencia de referencia" es una secuencia definida utilizada como una base para una secuencia de comparación, una secuencia de referencia puede ser un subconjunto de una secuencia mayor, por ejemplo, como un segmento de un ADNc de longitud completa o secuencia de genes que figuran en una
20 lista de secuencias o puede comprender un ADNc completo o secuencia de genes. Por lo general, una secuencia de referencia es de por lo menos 18 nucleótidos o 6 aminoácidos de longitud, con frecuencia de por lo menos 24 nucleótidos u 8 aminoácidos de longitud, y con mayor frecuencia de por lo menos 48 nucleótidos o 16 aminoácidos de longitud. Ya que dos polinucleótidos o secuencias de aminoácidos pueden cada una (1) comprender
25 una secuencia (es decir, una porción de la secuencia de polinucleótido o de aminoácidos completa) que es similar entre las dos moléculas, y (2) pueden comprender además una secuencia que es divergente entre las dos secuencias de polinucleótidos o de aminoácidos, las comparaciones de secuencias entre dos (o más) moléculas son normalmente realizadas mediante la comparación de las secuencias de las dos moléculas
30 sobre una "ventana de comparación" para identificar y comparar las regiones locales de similitudes de secuencias. Una "ventana de comparación", como se utiliza en este documento, se refiere a un segmento conceptual de por lo menos una posición de 18 nucleótidos contiguos o 6 aminoácidos, en donde una secuencia de polinucleótidos o secuencia de aminoácidos puede ser comparada con una secuencia de referencia de al
35 menos una secuencia de 18 nucleótidos contiguos o 6 aminoácidos, y en donde la porción de la secuencia de polinucleótidos en la ventana de comparación puede comprender adiciones, supresiones, sustituciones, y similares (es decir, intervalos), de 20 por ciento o menos en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones o supresiones) para una alineación óptima de dos secuencias. La alineación óptima de
40 secuencias para la alineación de una ventana de comparación puede ser conducida por el algoritmo de homología local de *Smith y Waterman Adv. Appl. Matemáticas. 2:482 (1981)*,

por el algoritmo de alineación de homología de Needleman y Wunsch *J. Mol. Biol.* 48:443 (1970), por el método de búsqueda por similitud de Pearson y Lipman *Proc. Natl. Acad. Sci. (EE.UU.)* 85:2444 (1988), por las implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA, y TFASTA en el Paquete de Software de Wisconsin Genetics Release 7.0, (*Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.*), Geneworks, o paquetes de software de MacVector), o por inspección, y la mejor alineación (es decir, resultando en el mayor porcentaje de homología sobre la ventana de comparación) generada por diversos métodos es seleccionada.

El término "identidad de secuencia" significa que dos secuencias de polinucleótido o de aminoácidos son idénticas (es decir, en una base de nucleótido por nucleótido o residuo por residuo) sobre la ventana de comparación. El término "porcentaje de identidad de secuencia" es calculado mediante la comparación de dos secuencias alineadas de forma óptima sobre la ventana de comparación, determinando el número de posiciones en las cuales la base de ácido nucleico idéntica (por ejemplo, A, T, C, G, U o I) o residuo se producen en ambas secuencias para obtener el número de posiciones emparejadas, dividiendo el número de posiciones emparejadas por el número total de posiciones en la ventana de comparación (es decir, el tamaño de la ventana), y multiplicando el resultado por 100 para obtener el porcentaje de identidad de secuencia. El término "identidad sustancial" como se utiliza en este documento denota una característica de una secuencia de polinucleótido o de aminoácidos, en donde el polinucleótido o ácido amino comprende una secuencia que tiene por lo menos una identidad de secuencia de 85 por ciento, preferiblemente por lo menos una identidad de secuencia del 90 a 95 por ciento, con más comúnmente por lo menos una identidad de secuencia del 99 por ciento en comparación con una secuencia de referencia sobre una ventana de comparación de por lo menos posiciones de 18 nucleótidos (6 aminoácidos), con frecuencia sobre una ventana de por lo menos posiciones de 24-48 nucleótidos (8-16 aminoácidos), en donde el porcentaje de identidad de secuencia es calculado mediante la comparación de la secuencia de referencia con la secuencia que puede incluir supresiones o adiciones que totalizan el 20 por ciento o menos de la secuencia de referencia sobre la ventana de comparación. La secuencia de referencia puede ser un subconjunto de una secuencia más larga.

Como se utiliza en este documento, los veinte aminoácidos convencionales y sus abreviaturas siguen el uso convencional. Ver *Immunology – A Synthesis* (2ª edición, E.S. Golub y D.R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland7 Mass. (1991)). Los estereoisómeros (por ejemplo, los aminoácidos D-) de los veinte aminoácidos convencionales, aminoácidos no naturales, como α -, aminoácidos α -disustituidos, aminoácidos N-alquilo, ácido láctico, y otros aminoácidos no convencionales también pueden ser componentes adecuados para los polipéptidos de la invención. Los ejemplos de los aminoácidos no convencionales incluyen: 4 hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato, ϵ -N,N,N-trimetilisina, ϵ -N-acetilisina, O-fosfoserina, N-acetilserina, N-formilmetionina, 3-metilhistidina, 5-hidroxilisina, σ -N-metilarginina; y otros ácidos aminoácidos y ácidos imino

similares (por ejemplo, 4-hidroxiprolina). En la notación del polipéptido utiliza en este documento, la dirección a la izquierda es la dirección del amino-terminal y la dirección a la derecha es la dirección carboxi-terminal, de acuerdo con el uso y convenciones estándares.

5 Del mismo modo, a menos que se especifique lo contrario, el extremo a la izquierda de las secuencias de polinucleótido monocatenario es el extremo 5', la dirección a la izquierda de las secuencias de polinucleótido bicatenario se denomina como la dirección 5'. La dirección 5' a 3' de adición de transcripciones de ARN naciente es denominada como las regiones de transcripción de secuencia de dirección en la hebra de ADN que tiene la misma secuencia que el ARN, y que son 5' al extremo 5' de la transcripción de ARN son denominadas como "secuencias arriba", las regiones de secuencias en la hebra de ADN que tienen la misma secuencia del ARN y que son 3' al extremo 3' de la transcripción de ARN son denominadas "secuencias abajo".

15 Tal como se aplica a los polipéptidos, el término "identidad sustancial" significa que dos secuencias de péptidos, cuando alineadas de manera óptima, tal como por los programas GAP o BESTFIT que utilizan los pesos de los intervalos por defecto, comparten por lo menos el 80 por ciento de identidad de secuencia, preferiblemente por lo menos el 90 por ciento de identidad de secuencia, más preferiblemente por lo menos el 95 por ciento de identidad de secuencia, y mucho más preferiblemente por lo menos el 99 por ciento de identidad de secuencia.

Preferiblemente, las posiciones de residuos que no son idénticos difieren por las sustituciones de aminoácidos conservadoras.

25 Las sustituciones de aminoácidos conservadoras se refieren a la capacidad de intercambio de los residuos que tienen cadenas laterales similares. Por ejemplo, un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales alifáticas es glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales alifático-hidroxilo es serina y treonina; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen amida es la asparagina y glutamina; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales aromáticas es fenilalanina, tirosina y triptófano; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales de base es lisina, arginina e histidina; y un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen azufre es cisteína y metionina. Los grupos de sustitución de amino ácidos conservadores son: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, valina alanina, glutámico-aspartico, y asparagina-glutamina.

35 Como se discute en este documento, pequeñas variaciones en las secuencias de aminoácidos de anticuerpos o moléculas de inmunoglobulina son contempladas como siendo abarcadas por la presente invención, siempre que las variaciones en la secuencia de aminoácidos mantengan por lo menos el 75%, más preferiblemente por lo menos el 80%, 90%, 95%, y mucho más preferiblemente el 99%. En particular, los reemplazos conservadores de aminoácidos son contemplados. Los reemplazos conservadores son los

que tienen lugar dentro de una familia de aminoácidos que están relacionados en sus cadenas laterales. Los aminoácidos genéticamente codificados son generalmente divididos en las familias: (1) los aminoácidos ácidos son aspartato, glutamato, (2) los aminoácidos básicos son la lisina, arginina, histidina, (3) los aminoácidos no polares son la alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano, y (4) los aminoácidos polares sin carga son glicina, asparagina, glutamina, cisteína, serina, treonina, tirosina. Los aminoácidos hidrofílicos incluyen arginina, asparagina, aspartato, glutamina, glutamato, histidina, lisina, serina y treonina. Los aminoácidos hidrofóbicos incluyen alanina, cisteína, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, prolina, triptófano, tirosina y valina. Otras familias de aminoácidos incluyen: (i), serina y treonina, que son la familia de alifático-hidroxilo; (ii) asparagina y glutamina, que son la familia que contiene amida, (iii) alanina, valina, leucina e isoleucina, que son la familia de alifáticos, y (iv) fenilalanina, triptófano, y tirosina, que son la familia de aromáticos. Por ejemplo, es razonable esperar que un reemplazo aislado de una leucina con una isoleucina o valina, un aspartato con un glutamato, una treonina con una serina, o una reemplazo similar de un aminoácido con un aminoácido estructuralmente relacionado no tendrá un mayor efecto en la unión o propiedades de la molécula resultante, especialmente si el reemplazo no involucra un aminoácido en un sitio de marco. Si un cambio de aminoácidos resulta en un péptido funcional se puede determinar fácilmente mediante el ensayo de la actividad específica del polipéptido derivado. Los ensayos son descritos en detalle en este documento. Los fragmentos o análogos de anticuerpos o moléculas de inmunoglobulina pueden ser fácilmente preparados por los expertos en el arte. Las extremidades amino- y carboxi- preferidas de fragmentos o análogos ocurren cerca de los límites de los dominios funcionales. Los dominios estructurales y funcionales pueden ser identificados mediante la comparación de los datos de las secuencias de nucleótidos y/o de aminoácidos con bases de datos de secuencia pública o privada. Preferiblemente, los métodos computarizados de comparación son utilizados para identificar los motivos de secuencia o los dominios de conformación de proteína predichos que ocurren en otras proteínas de estructura y/o función conocidas. Son conocidos los métodos para identificar las secuencias de proteínas que se pliegan en una estructura tri-dimensional conocida. *Bowie et al. Science 253:164 (1991)*. De esta manera, los ejemplos anteriores demuestran que los expertos en el arte pueden reconocer los motivos de secuencia y conformaciones estructurales que pueden ser utilizados para definir los dominios estructurales y funcionales de acuerdo con la invención.

Las sustituciones de aminoácidos preferidas son aquellas que: (1) reducen la susceptibilidad a la proteólisis, (2) reducen la susceptibilidad a la oxidación, (3) alteran la afinidad de unión para la formación de complejos de proteínas, (4) alteran las afinidades de unión, y (4) confieren o modifican otras propiedades fisicoquímicas o funcionales de tales análogos. Los análogos pueden incluir diversas muteínas de una secuencia distinta de la secuencia de péptido de origen natural. Por ejemplo, las sustituciones de aminoácidos individuales o múltiples (preferiblemente sustituciones de aminoácidos

28

conservadoras) pueden ser realizadas en la secuencia de origen natural (preferiblemente en la porción del polipéptido fuera de los contactos intermoleculares de la formación de dominio(s). Una sustitución de aminoácidos conservadora no debería cambiar sustancialmente las características estructurales de la secuencia priogénitor (por ejemplo, un aminoácido de reemplazo no debería tender a romper una hélice que se produce en la secuencia progenitor, o perturbar otros tipos de estructura secundaria que caracteriza a la secuencia progenitor). Los ejemplos de estructuras secundarias y terciarias de polipéptidos reconocidos en el arte son descritas en *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); *Introduction to Protein Structure* (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); y Thornton et al. *Nature* 354:105 (1991).

El término "fragmento del polipéptido" como se utiliza en este documento, se refiere a un polipéptido que tiene un amino terminal y/o supresión carboxi-terminal, pero donde la secuencia de aminoácidos restante es idéntica a las posiciones correspondientes en la secuencia de origen natural deducida, por ejemplo, a partir de una secuencia de ADNc de longitud completa. Los fragmentos normalmente son por lo menos de 5, 6, 8 o 10 aminoácidos de largo, preferiblemente por lo menos de 14 aminoácidos de largo, más preferiblemente por lo menos de 20 aminoácidos de largo, en general por lo menos de 50 aminoácidos de largo, y aún más preferiblemente por lo menos de 70 aminoácidos de largo. El término "análogo" como se utiliza en este documento, se refiere a polipéptidos que están compuestos de un segmento de por lo menos 25 aminoácidos que tienen identidad sustancial a una porción de una secuencia de aminoácidos deducida y que tiene unión específica a la IL-17F sola o al heterodímero de IL-17A/IL-17F (es decir, complejos), bajo las condiciones de unión adecuadas. Normalmente, los análogos de polipéptido comprenden una sustitución de aminoácidos conservadora (o adición o supresión) con respecto a la secuencia de origen natural. Los análogos normalmente son de por lo menos 20 aminoácidos de largo, preferiblemente por lo menos de 50 aminoácidos de longitud o más, y muchas veces puede ser tan largo como un polipéptido de origen natural de longitud completa.

Los análogos del péptido son comúnmente utilizados en la industria farmacéutica como fármacos no-peptídicos con propiedades análogas a las del péptido de la plantilla. Estos tipos de compuesto no-peptídicos son denominados "péptido miméticos" o "peptidomiméticos". Fauchere, J. *Adv. Drug Res.* 15:29 (1986), Veber y Freidinger *TINS* p.392 (1985); y Evans et al. *J. Med. Chem.* 30:1229 (1987). Tales compuestos han sido desarrollados con frecuencia con la ayuda de un modelo molecular computarizado. Los péptidos miméticos que son estructuralmente similares a péptidos terapéuticamente útiles pueden ser utilizados para producir un efecto terapéutico o profiláctico equivalente. En general, los peptidomiméticos son estructuralmente similares a un polipéptido paradigma (es decir, un polipéptido que tiene una propiedad bioquímica o actividad farmacológica), tales como los anticuerpos humanos, pero tiene uno o más enlaces de péptidos

opcionalmente sustituidos por un enlace seleccionado del grupo que consiste de: --CH₂NH--, --CH₂S-, --CH₂-CH₂--, --CH=CH--(cis y trans), --COCH₂--, CH(OH)CH₂--, y -CH₂SO--, mediante métodos bien conocidos en el arte. La sustitución sistemática de uno o más aminoácidos de una secuencia de consenso con un D-aminoácido del mismo tipo (por ejemplo, la D-lisina en lugar de la L-lisina) puede ser utilizado para generar péptidos más estables. Además, los péptidos restringidos que comprenden una secuencia de consenso o una variación de la secuencia de consenso sustancialmente idéntica pueden ser generados por métodos conocidos en el arte (*Rizo y Gierasch Ann. Rev. Biochem* 61:387 (1992)); por ejemplo, mediante la adición de residuos de cisteína internos capaces de formar puentes disulfuros intramoleculares que ciclan el péptido.

El término "agente" es utilizado en este documento para denotar un compuesto químico, una mezcla de compuestos químicos, una macromolécula biológica, o un extracto hecho de materiales biológicos.

Tal como se utiliza en este documento, los términos "etiqueta" o "etiquetado" se refiere a la incorporación de un marcador detectable, por ejemplo, mediante la incorporación de un aminoácido radiomarcado o adhesión a un polipéptido de porciones biotínil que pueden ser detectadas por avidina marcada (por ejemplo, la estreptavidina que contiene un marcador fluorescente o una actividad enzimática que pueden ser detectada por métodos ópticos o calorimétricos). En ciertas situaciones, la etiqueta o marcador también puede ser terapéutico. Varios métodos de etiquetado de polipéptidos y glicoproteínas son conocidos en la técnica y pueden ser utilizados. Los ejemplos de etiquetas para polipéptidos incluyen, pero no se limitan a, lo siguiente: radioisótopos o radionúclidos (por ejemplo, ³H, ¹⁴C, ¹⁵N, ³⁵S, ⁹⁰Y, ⁹⁹Tc, ¹¹¹In, ¹²⁵I, ¹³¹I), marcadores fluorescentes (por ejemplo, FITC, rodamina, fósforos lantánidos), etiquetas enzimáticas (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, p-galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina), quimioluminiscencia, grupos biotíniles, epítopos polipéptidos predeterminados reconocidos por un indicador secundario (por ejemplo, secuencias de pares de cremalleras de leucina, sitios de unión para anticuerpos secundarios, dominios de unión al metal, etiquetas de epítopos). En algunas modalidades, las etiquetas son adjuntadas mediante brazos espaciadores de varias longitudes para reducir el impedimento estérico potencial. El término "fármaco o agente farmacéutico" como se utiliza en este documento, se refiere a una composición o compuesto químico capaz de inducir un efecto terapéutico deseado cuando es administrado correctamente a un paciente.

Otros términos químicos de este documento son utilizados según los usos convencionales en el arte, como se ejemplifica en *The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms* (Parker, S. Ed., McGraw-Hill, San Francisco (1985)).

El término "agente antineoplásico" es utilizado en este documento para referirse a los agentes que tienen la propiedad funcional de inhibir el desarrollo o progresión de un neoplasma en un humano, en particular, una lesión maligna (cancerosa), tal como un carcinoma, sarcoma, linfoma o leucemia. La inhibición de la metástasis es con frecuencia

30

una característica de los agentes antineoplásicos.

Como se utiliza en este documento, "substancialmente puro" significa que una especie objeto es la especie predominante presente (es decir, sobre una base molar es más abundante que cualquier otra especie individual en la composición), y, preferiblemente, una fracción purificada sustancial es una composición en donde la especie objeto comprende por lo menos el 50 por ciento (sobre una base molar) de todas las especies macromoleculares presentes.

Por lo general, una composición sustancialmente pura comprenderá más de cerca de un 80 por ciento de todas las especies macromoleculares presentes en la composición, más preferiblemente más de cerca de un 85%, 90%, 95% y 99%. Mucho más preferiblemente, la especie objeto es purificada a una homogeneidad esencial (la especie de contaminante no puede ser detectada en la composición mediante los métodos de detección convencionales) en donde la composición consiste esencialmente de una especie macromolecular única.

Las enfermedades autoinmunes incluyen, por ejemplo, el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA, que es una enfermedad viral con un componente autoinmune), la alopecia areata, la espondilitis anquilosante, el síndrome antifosfolípido, la enfermedad autoinmune de Addison, la anemia hemolítica autoinmune, la hepatitis autoinmune, la enfermedad del oído interno autoinmune (AIED, por sus siglas en inglés), el síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPES, por sus siglas en inglés), la púrpura trombocitopénica autoinmune (ATP, por sus siglas en inglés), la enfermedad de Behcet, la miocardiopatía, la enfermedad celíaca-dermatitis herpetiforme, el síndrome de fatiga crónica y disfunción inmune (CFIDS, por sus siglas en inglés), la Polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIPD, por sus siglas en inglés), el penfigoide cicatrizal, la enfermedad por crioaglutininas, el síndrome de la cresta, la enfermedad de Crohn, la enfermedad de Degos, la dermatomiositis juvenil, el lupus discoide, la crioglobulinemia mixta esencial, la fibromialgia-fibromiositis, la enfermedad de Graves, el síndrome de Guillain-Barré, la tiroiditis de Hashimoto, la fibrosis pulmonar idiopática, la púrpura trombocitopénica idiopática (ITP, por sus siglas en inglés), la nefropatía IgA, la diabetes mellitus dependiente de insulina, la artritis crónica juvenil (enfermedad de Still), la artritis reumatoide juvenil, la enfermedad de Ménière, la enfermedad mixta del tejido conectivo, la esclerosis múltiple, la miastenia gravis, la anemia perniciosa, la poliarteritis nodosa, la policondritis, los síndromes poliglandulares, la polimialgia reumática, la polimiositis y dermatomiositis, la agammaglobulinemia primaria, la cirrosis biliar primaria, la psoriasis, la artritis psoriásica, el fenómeno de Raynaud, el síndrome de Reiter, la fiebre reumática, la artritis reumatoide, la sarcoidosis, la esclerodermia (esclerosis sistémica progresiva (PSS, por sus siglas en inglés), también conocida como esclerosis sistémica (SS, por sus siglas en inglés)), el síndrome de Sjögren, el síndrome del hombre rígido, el lupus eritematoso sistémico, la arteritis de Takayasu, la arteritis temporal y la arteritis de células gigantes, la colitis ulcerosa, la uveítis, el vitiligo y la granulomatosis de Wegener.

31

Los trastornos inflamatorios incluyen, por ejemplo, los trastornos inflamatorios crónicos y agudos. Los ejemplos de trastornos inflamatorios incluyen la enfermedad de Alzheimer, el asma, la alergia atópica, la alergia, la aterosclerosis, el asma bronquial, el eczema, la glomerulonefritis, la enfermedad injerto contra huésped, las anemias hemolíticas, la osteoartritis, la sepsis, la apoplejía, el trasplante de tejidos y órganos, la vasculitis, la retinopatía diabética y lesión pulmonar inducida por el ventilador.

Anticuerpos huLL-17F/A

Los anticuerpos monoclonales de la invención (por ejemplo, los anticuerpos monoclonales completamente humanos) tienen la capacidad de inhibir la producción de citoquinas proinflamatorias inducida por la IL-17F, la IL-17A y/o IL-1F/IL-17A (por ejemplo, la IL-6). La inhibición es determinada, por ejemplo, los ensayos celulares de fibroblastos embrionarios de ratón (MEF, por sus siglas en inglés) estimulados por la IL-17 descritos en este documento.

Los anticuerpos ejemplificantes de la invención incluyen, por ejemplo, el anticuerpo 30D12, el anticuerpo 29D8, el anticuerpo 1E4, el anticuerpo 31A3, el anticuerpo 39F12, el anticuerpo 12B12, el anticuerpo 15B7, el anticuerpo 4H11, el anticuerpo 4B11, el anticuerpo 8B11, el anticuerpo 38B1, y el anticuerpo 15E6, el anticuerpo 5E12, el anticuerpo 41B10, y variantes de los mismos. Las variantes de estos anticuerpos incluyen el anticuerpo 30D12BF (una variante del anticuerpo 30D12), el anticuerpo 39F12A (una variante del anticuerpo 39F12), y el anticuerpo 15E6FK (una variante del anticuerpo 15E6). Estos anticuerpos muestran especificidad para la IL-17F humana y han sido indicados para inhibir la inducción *in vitro* de la IL-17F humana de las citoquinas proinflamatorias IL-6. El anticuerpo 29D8 ("Mab02a"), el anticuerpo 1E4 ("Mab02b"), el anticuerpo 31A3 ("Mab02c"), el anticuerpo 39F12 ("Mab06a"), el anticuerpo 12B12 ("Mab06b"), el anticuerpo 15B7 ("Mab06c"), el anticuerpo 4H11 ("Mab09"), el anticuerpo 30D12, el anticuerpo 8B11, el anticuerpo 38B1, el anticuerpo 15E6 y el anticuerpo 4B11 también muestran especificidad para la IL-17 humana y han sido indicados para inhibir la producción *in vitro* de IL-6 inducida por la IL-17A. El anticuerpo 29D8, el anticuerpo 1E4, el anticuerpo 31A3, el anticuerpo 39F12, el anticuerpo 12B12, el anticuerpo 15B7, el anticuerpo 4H11, el anticuerpo 30D12, el anticuerpo 8B11, el anticuerpo 38B1, el anticuerpo 15E6 y el anticuerpo 4B11 también muestran especificidad para el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F humana. El anticuerpo 5E12 se une a la IL-17F humana, pero no se une a la IL-17A humana, al homodímero de IL-17A o al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F humana. El anticuerpo 41B10 se une a la IL-17F humana y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F humana, pero se une a la IL-17 o al homodímero de IL-17A.

Cada uno de los anticuerpos monoclonales huLL-17F descritos en este documento incluye una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), como se muestra en las secuencias de aminoácidos y correspondientes ácidos nucleicos, listadas a continuación. El anticuerpo 30D12 incluye una región variable de cadena

32

pesada (SEC ID NO:2) codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la SEC ID NO:1, y una región variable de cadena ligera (SEC ID NO:4) codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la SEC ID NO:3.

>secuencia de ácido nucleico de VH 30D12 (ID SEC NO:1)

5 CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAA
GGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAAGTTATGATATCAACTGGGTGCGA
CAGGCCACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATGAACCCTGACAGTGGTGT
CATACGTTATGCACAGAAGTTCCAGGGTAGAGTCACCATGACCAGGAACACCTCCAT
AAGCACAGCCTACATGGAGCTAAACAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTA
10 CTGTGCGAGAGAATGGTTCGGGGAGTTACCCTCTTACTACTTCTACTCCGGTATGGA
CGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

>secuencia de aminoácidos de VH 30D12 (ID SEC NO:2)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMNPDSGV
IRYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELNSLRSEDTAVYYCAREWFGELPSYYFYSGMDVW
15 GQGTTVTVSS

>secuencia de ácido nucleico de VL 30D12 (ID SEC NO:3)

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCC
ACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAG
AAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGC
20 ATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGC
AGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTC
CCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA

>secuencia de aminoácidos de VL 30D12 (ID SEC NO:4)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPAR
25 FSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGPGTKVDIK

Los anticuerpos 29D8, 1E4 y 31A3, incluyen cada uno una región variable de cadena pesada distinta, pero comparten una región variable de cadena ligera en común. El anticuerpo 29D8 incluye una región variable de cadena pesada (ID SEC NO:6) codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:5. El anticuerpo 1E4
30 incluye una región variable de cadena pesada (ID SEC NO:8) codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:7. El anticuerpo 31A3 incluye una región variable de cadena pesada (ID SEC NO:10) codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:9. La región variable de la cadena ligera para los anticuerpos 29D8, 1E4 y 31A3 (ID SEC NO:12) es codificada por la secuencia de
35 ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:11.

>secuencia de ácido nucleico de VH 29D8 (ID SEC NO:5)

CAGGTTCAAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAA
GGTCTCCTGCAAGGCTTTTGCTTACACCTTTTCCACCTATGGTATCAGCTGGGTGCGA

CAGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATAGTAAC
 ACAAACCTATGCACAGAAAGTCCAGGGCAGAATCACCATGACCACAGACACATCCACG
 CGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGGGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTT
 CTGTGCGACTTTCTTCGGTGGTCACTCTGGCTACCACTACGGGTTGGACGTCTGGGG
 5 CCAGGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

>secuencia de aminoácidos de VH 29D8 (ID SEC NO:6)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAFAYTFSTYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNSNT
 NYAQKVQGRITMTTDTSTRTAYMELRGLRSDDTAVYFCATFFGGHSGYHYGLDWWGQG
 TTVTVSS

10 >secuencia de ácido nucleico de VH 1E4 (ID SEC NO:7)

CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAA
 GGTTTCCTGCAAGGCTTCTGTTTACACCTTTACCACTTATGGTATCAGCTGGGTGCGA
 CAGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGTTTACAATGGTAAT
 ACAAACCTATGGACAGAAATTTCCAGGGCAGAGTCAGCATGACCACAGACACATCCACG
 15 AGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTAC
 TGTGCGAGTTTCCACGGTGGTCACTCTGGCTACCACTACGGTTTGGACGTCTGGGGC
 CAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

>secuencia de aminoácidos de VH 1E4 (ID SEC NO:8)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASVYTFTTYGISWVRQAPGQGLEWMGWISVYNGNT
 20 NYGQNFQGRVSMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCASFHGGHSGYHYGLDWWGQ
 GTTVTVSS

>secuencia de ácido nucleico de VH 31A3 (ID SEC NO:9)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAA
 GGTCTCCTGCAAGGCTTCTGTTTACACCTTTACCACTATGGTATCAGTTGGGTGCGA
 25 CAGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCACCGTTTACAATGGTAAC
 ACAAACCTATGCACAGAAAGTTCCACGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACA
 AGTACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTCTATTAC
 TGTGCGAGTTTCCACGGTGGTCATTCTGGCTACCACTACGGTTTGGACGTCTGGGGC
 CAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

30 >secuencia de aminoácidos de VH 31A3 (ID SEC NO:10)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASVYTFTTYGISWVRQAPGQGLEWMGWITVYNGNT
 NYAQKFHGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCASFHGGHSGYHYGLDWWGQG
 TTVTVSS

>secuencia de ácido nucleico de VL 29D8, 1E4 y 31A3 (ID SEC NO:11)

35 GAAATTGTGTTGACNCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCC
 ACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAG
 AAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATNTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGC

ATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGC
AGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTC
CGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

>secuencia de aminoácidos de VL 29D8, 1E4 y 31A3 (ID SEC NO:12)

5 EIVLXQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLXYDASNRATGIPA
RFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRSNWPPYTFGQGKLEIK

El anticuerpo 4B11 incluye una región variable de cadena pesada (ID SEC NO:14)
codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:13, y una
región variable de cadena ligera (ID SEC NO:16) codificada por la secuencia de ácido
10 nucleico que se muestra en la ID SEC NO:15.

>secuencia de ácido nucleico de VH 4B11 (ID SEC NO:13)

CAGCTGCAGTTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTC
CCTCACCTGCGCTGTCTCTGATGACTACATCAGCAGTAGGAGTTACTACTGGGGCTG
GATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTG
15 GGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCCGTAGACACGT
CCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAAGTGAGTTCTGTGACCGCCACAGACACGGCTGTGT
ATTACTGTGCGAGAGTCAGTGGCTGGAACGGGAAGTTCGACCCCTGGGGCCAG
GGAACCCTGGTCACGGTCTCCTCA

>secuencia de aminoácidos de VH 4B11 (ID SEC NO:14)

20 QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSDDYISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKVSSVTATDTAVYYCARVSGWNGNWFDPWGQGLTVT
SS

>secuencia de ácido nucleico de VL 4B11 (ID SEC NO:15)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCC
25 ACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAG
CAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACT
GGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATC
AGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCAC
CGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTA

30 >secuencia de aminoácidos de VL 4B11 (ID SEC NO:16)

EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIP
DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPITFGQGRLEIK

Los anticuerpos 39F12 y 12B12 incluyen cada uno una región variable de la cadena
pesada distinta, pero comparten una región variable de cadena ligera en común. El
35 anticuerpo 39F12 incluye una región variable de cadena pesada (ID SEC NO:18)
codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:17. El
anticuerpo 12B12 incluye una región variable de cadena pesada (ID SEC NO: 20)

35

codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:19. La región variable de la cadena ligera para los anticuerpos 39F12 y 12B12 (ID SEC NO:22) es codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:21.

>secuencia de ácido nucleico de VH 39F12 (ID SEC NO:17)

5 CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAA
GGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCCTCAGCAGCTATGCTTTCAGCTGGGTGCG
ACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTTTCTTTGGAAC
AACAAATTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCATAATTACCGCGGACGAATCCAC
GAACACAGCCTACATGGAGCTGAGCGGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATT
10 ATTGTGCGAGAGACAGGGATTACTATGGTTTGGGGAGTCCCTTCTACTACTACGGTAT
GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

>secuencia de aminoácidos de VH 39F12 (ID SEC NO:18)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTLSSYAFSWVRQAPGQGLEWMGGIIPFFGTT
NYAQKFQGRVIITADESTNTAYMELSGLRSEDVAVYYCARDRDYYGLGSPFYFYGMDVW
15 GQGTTVTVSS

>secuencia de ácido nucleico de VH 12B12 (ID SEC NO:19)

CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAA
GGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCCTCAGCAGCTATGCTTTCAGCTGGGTGCG
ACAGGCCCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTTTCTTTGGAAC
20 AGTAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCCAC
GAACACTGCCTATATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTA
CTGTGCGAGAGACAGGGATTATTATGGTTTGGGGAGTCCCCTCCACTACTACGGTTT
GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

>secuencia de aminoácidos de VH 12B12 (ID SEC NO:20)

25 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTLSSYAFSWVRQAPGQGLEWMGGIIPFFGTV
NYAQKFQGRVTITADESTNTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDRDYYGLGSPLHYYGLDVW
GQGTTVTVSS

>secuencia de ácido nucleico de VL 39F12 y 12B12 (ID SEC NO:21)

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGACTTTCAGTCTGTGACTCCAAAGGAGAAAGTCA
30 CCATCACCTGCCGGGCCAGTCAGAGCATTGGTAGTAGCTTACACTGGTACCAGCAGA
AACCAGATCAGTCTCCAAAGCTCCTCATCAAGTATGCTTCCCAGTCCTTCTCAGGGGT
CCCCTCGAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTACCCTCACCATCAATAG
CCTGGAAGCTGAAGATGCTGCAGCGTATTACTGTCATCAGAGTAGTAGTTTACCGTG
GACGTTGCGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA

35 >secuencia de aminoácidos de VL 39F12 y 12B12 (ID SEC NO:22)

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSR
FSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCHQSSSLPWTFGQGTKVEIK

El anticuerpo 4H11 incluye una región variable de cadena pesada (ID SEC NO:28) codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:27, y una región variable de cadena ligera (ID SEC NO:30) codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:29.

5 >secuencia de ácido nucleico de VH 4H11 (ID SEC NO:23)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGA
AACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGGTTCACCTTCAGTGGCTCTTCTATGCACTGGGTCC
GCCAGGCTTCCGGGAAAGGGCTGGACTGGGTGGCCGTATTAGAAGCAAAGCTAAC
AGTTACGCGACAGCATATGCTGCGTCGGTGATAGGCAGGTTACCATCTCCAGAGAT
10 GATTCAAAGAACACGGCGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACGGCC
GTGTATTACTGTACTACATCAGTGGCTACTACCCTTACTGACTACTACGGTATGGACG
TCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

>secuencia de aminoácidos de VH 4H11 (ID SEC NO:24)

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSGSSMHWRQASGKGLDWVGRIRSKANSY
15 ATAYAASVIGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTTSVATTLTDYYGMDVWGQG
TTVTVSS

>secuencia de ácido nucleico de VL 4H11 (ID SEC NO:25)

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCC
ACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAG
20 AAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGC
ATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGC
AGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAACAGCGTAGCAACTGGCCTC
CATTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA

>secuencia de aminoácidos de VL 4H11 (ID SEC NO:26)

25 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPAR
FSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIK

El anticuerpo 8B11 incluye una región variable de cadena pesada (ID SEC NO:32) codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:31, y una región variable de cadena ligera (ID SEC NO:34) codificada por la secuencia de ácido
30 nucleico que se muestra en la ID SEC NO:33.

>secuencia de ácido nucleico de VH 8B11 (ID SEC NO:27)

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACACCCTGGGGGGTCCCTGA
GACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTTTAACATGGACTGGGTCC
GCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATCCATTAGTACTACTAGCAGAA
35 TCATATACTCTGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCA
GGAACCTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTATATT
ACTGTGCGAGAGTCAGTTACTATGGCCACGGATTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC
TGGTCACCGTCTCCTCA

37

>secuencia de aminoácidos de VH 8B11 (ID SEC NO:28)

EVQLVESGGGLVHPGGSRLSCAASGFTFSSFNMDWVRQAPGKGLEWVSSISTTSRIIYS
ADSVKGRFTISRDNARNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARVSYIGHGFDYWGGQGLVTVS
S

5 >secuencia de ácido nucleico de VL 8B11 (ID SEC NO:29)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTC
ACCATCACTTGTTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAG
AAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGG
GTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGC
10 AGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCTCT
CACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

>secuencia de aminoácidos de VL 8B11 (ID SEC NO:30)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIK

- 15 El anticuerpo 15B7 incluye una región variable de la cadena pesada distinta (ID SEC NO:36) codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:35, y comparte una región variable de cadena ligera en común con los anticuerpos 39F12 y 12B12 (ID SEC NO:22), codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:21, mostrada anteriormente.

20 >secuencia de ácido nucleico de VH 15B7 (ID SEC NO:31)

CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAA
GGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCCTCAGCAGCTATGCTTTCAGCTGGGTGCG
ACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGAATCATCCCTTTCTTTGGAAC
AGCACACTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACGAATCCAC
25 GAACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTATATTA
CTGTGCGAGAGATAGGGACTACTATGGTTTCGGGGAGTCCCTTCCACTTCTCCGGTTT
GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

>secuencia de aminoácidos de VH 15B7 (ID SEC NO:32)

- 30 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTLSSYAFSWVRQAPGQGLEWMGGIIPFFGTA
HYAQKFQGRVTITADESTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDRDYYGSGSPFHFSGLDVW
GQGTTVTVSS

- El anticuerpo 38B1 incluye una región variable de la cadena pesada distinta (ID SEC NO:34) codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:33, y una región variable de cadena ligera (ID SEC NO:36) codificada por la
35 secuencia de ácido nucleico se muestra en la ID SEC NO:35.

>secuencia de ácido nucleico de VH 38B1 (ID SEC NO:33)

GAAGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAG

38

ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTTTGCCATGCACTGGGTCCGG
CAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAATAGTGGTAGC
ATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAG
AACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCCGAGGACACGGCCTTGTATTACT
5 GTGCAAAAGATATAGCAGCAGCTGGTGAATTCTACTTCGATATGGACGTCTGGGGCC
AAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

>secuencia de aminoácidos de VH 38B1 (ID SEC NO:34)

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDFAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSGSI
GYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDIAAAGEFYFDMDWVGQGT
10 TVTVSS

>secuencia de ácido nucleico de VL 38B1 (ID SEC NO:35)

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCC
ACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAG
AAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGC
15 ATCCCAGCCAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGC
AGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTC
CGACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

>secuencia de aminoácidos de VL 38B1 (ID SEC NO:36)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPAR
20 FSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKLEIK

El anticuerpo 15E6 incluye una distinta región variable de la cadena pesada (ID SEC NO: 38) codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO: 37, y una región variable de cadena ligera (ID SEC NO: 40) codificada por la secuencia de ácido nucleico se muestra en la ID SEC NO: 39

>secuencia de ácido nucleico de VH 15E6 (ID SEC NO:37)

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGG
CAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAATAGTGGTGG
CATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAA
30 GAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTA
CTGTGCAAGAGATATGGGGGGGTTTCGGGGAGTTTTACTGGAACCTTCGGTCTCTGGG
GCCGTGGCACCCCTGGTCACTGTCTCCTCA

>secuencia de aminoácidos de VH 15E6 (ID SEC NO:38)

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSGGI
35 GYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDMGGFGEFYWNFGLWGRG
TLVTVSS

>secuencia de ácido nucleico de VL 15E6 (ID SEC NO:39)

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCC
 ACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGAAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAG
 AAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGGCCACTGGC
 ATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGC
 5 AGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTC
 CGGCCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

>secuencia de aminoácidos de VL 15E6 (ID SEC NO:40)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPAR
 FSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPATFGGGTKVEIK

- 10 El anticuerpo 5E12 incluye una región variable de cadena pesada (ID SEC NO:44)
 codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:43, y una
 región variable de cadena ligera (ID SEC NO:46) codificada por la secuencia de ácido
 nucleico que se muestra en la ID SEC NO:45. El anticuerpo 5E12 se une a la IL-17F y al
 homodímero IL-17A, pero no se une a la IL-17A o el complejo heterodimérico IL-17A/IL-
 15 17F.

> secuencia de ácido nucleico de VH 5E12 (ID SEC NO:43)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAG
 ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGG
 CAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTACC
 20 ATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAG
 AACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACT
 GTGCAAAGAAGTGTATATCAGTGACTGGGACTCCTACTCCTACGGTATGGACGTCT
 GGGGCCAAGGGACACGGTCACCGTCTCCTCA

> secuencia de aminoácidos de VH 5E12 (ID SEC NO:44)

25 QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGTI
 GYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKELYISDWDSYSYGMDVWGQ
 GTTVTVSS

>secuencia de ácido nucleico de VL 5E12 (ID SEC NO:45)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCC
 30 ACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAG
 CAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGGCCACT
 GGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATC
 AGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCAC
 CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

- 35 >secuencia de aminoácidos de VL 5E12 (ID SEC NO:46)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIP
 DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFGGGTKVEIK

El anticuerpo 41B10 incluye una región variable de cadena pesada (ID SEC NO:48) codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:47, y una región variable de cadena ligera (ID SEC NO:50) codificada por la secuencia de ácido nucleico que se muestra en la ID SEC NO:49. El anticuerpo 5E12 se une a la IL-17F, al homodímero de IL-17F, y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, pero no se une a la IL-17A.

>secuencia de ácido nucleico de VH 41B10 (ID SEC NO:47)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTAAAGCCTGGGGGGTCCCTTAG
ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAACGCCTGGATGAGCTGGGTCCG
CCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGGTGGCCGTATTAAAAGCAAACTGATG
GTGGGACAACAGACTACGTTGCACCCGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGATG
ATTCAAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGT
ATATTACTGTACCACATCGTATAGCAGTTACTGGTTCCCCTACTACTTTGACTACTGGG
GCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

>secuencia de aminoácidos de VH 41B10 (ID SEC NO:48)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDG
GTTDYVAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTSYSSYWFPYYFDYWGQ
GTLVTVSS

>secuencia de ácido nucleico de VL 41B10 (ID SEC NO:49)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTC
ACCATCACTTGTCTGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAG
AAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGG
GTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGC
AGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGA
TCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA

>secuencia de aminoácidos de VL 41B10 (ID SEC NO:50)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPS
RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSTPITFGQGTRLEIK

Los anticuerpos hUL-17A/F de la invención adicionalmente comprenden, por ejemplo, las regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada (VH CDR) mostradas a continuación en la Tabla 1, las regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera (VL CDR) mostradas en la Tabla 2, y combinaciones de las mismas.

Variantes de anticuerpos hUL-17F

Las variantes de varios de los anticuerpos hUL-17F descritos en este documento fueron preparados mediante la modificación de las secuencias de ADN de los genes de codificación de los anticuerpos progenitores. Por ejemplo, las modificaciones del ADN se realizaron para las regiones variables de la cadena pesada 30D12 y 15E6 y la región variable de la cadena ligera 39F12. Específicamente, estos cambios de aminoácidos dan

como resultado una serie de cambios en estos anticuerpos. Por ejemplo, las modificaciones realizadas a la región variable de la cadena pesada 30D12 da como resultado la eliminación de un sitio de glicosilación en la cadena pesada 30D12. (Los sitios de glicosilación N-ligados son NXS o NXT, donde X es cualquier aminoácido excepto P). Además, las modificaciones realizadas a 30D12 y 15E6 VH CDRs proporcionan mayor estabilidad química y homogeneidad de la preparación de anticuerpos mediante eliminar (es decir, sustituir) los residuos susceptibles a modificaciones químicas. Por ejemplo, en CDR2 de 15E6 VH, el residuo asparagina, capaz de formar un isoaspartato, fue cambiado a serina. En 30D12 VH CDR2 y 15E6 VH CDR3, los residuos de metionina fueron cambiados a leucina e isoleucina, respectivamente, con el fin de eliminar la posibilidad de oxidación del azufre de metionina. Las modificaciones adicionales a la región variable de la cadena pesada 30D12 y la región variable de la cadena ligera 39F12 restituyeron las secuencias marco originales de la línea germinal humana (por ejemplo, Asn a Ser en el marco 3 de 30D12 VH, y Ala a Thr en el marco de tres 39F12 VL).

Las variantes 30D12, 15E6 y 39F12 se describen en el presente documento como 30D12BF, 15E6FK y 39F12A, respectivamente. La región variable de cadena pesada (VH) y la región variable de cadena ligera (VL) para cada una de estas variantes se muestran en el aminoácido y la secuencia de ácido nucléico correspondiente listadas a continuación.

El anticuerpo 30D12BF incluye una distinta región variable de la cadena pesada (ID SEC NO: 52) codificada por la secuencia de ácido nucléico que se muestra en el ID SEC NO: 51, y comparte una región variable de cadena ligera con el anticuerpo 30D12 progenitor (ID SEC NO: 4) codificada por la secuencia de ácido nucléico que se muestra en el ID SEC NO: 3. Los residuos modificados en la secuencia de ácido nucléico que se muestra en el ID SEC NO: 51 se indican en negrita, subrayados y con letras sombreadas. Los CDRs en la secuencia de aminoácidos mostrada en el ID SEC NO: 52 se indican en el doble subrayado de las letras, mientras que los residuos modificados están sin negrita, cursiva y sombreado de gris.

Secuencia de ácido nucléico > 30D12BF VH (ID SEC NO: 51)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAA
GGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGTGCGA
CAGGCCACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGCTGAACCCTGACAGTGGTGT
CATACGTTATGCACAGAAGTTCCAGGGTAGAGTCACCATGACCAGGGACACCTCCAT
AAGCACAGCCTACATGGAGCTAAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTA
CTGTGCGAGAGAATGGTTCGGGGAGTTACCCTCTTACTACTTCTACTCCGGTATGGA
CGTCTGGGGCCAAGGGACCGGTCACCGTCTCCTCA

Secuencia de aminoácidos > 30D12BF VH (ID SEC NO: 52)

42

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWLNPD
SGVIRYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREWFGELPSYYFYSGMDV
WGQGTTVTVSS

En la ID SEC NO: 52, Met fue cambiado a Leu para prevenir la posible oxidación del
azufre de metionina; El motivo NTS fue cambiado a DTS para eliminar un sitio de
glicosilación en el marco 3, y una retromutación (para la línea germinal) de Asn a Ser se
introdujo en el marco 3.

El anticuerpo 15E6FK incluye una distinta región variable de cadena pesada (ID SEC NO:
54) codificada por la secuencia de ácido nucléico que se muestra en el ID SEC NO: 53, y
comparte una región variable de cadena ligera con el anticuerpo 15E6 progenitor (ID SEC
NO: 40) codificado por la secuencia de ácido nucléico que se muestra en el ID SEC NO:
39. Los residuos modificados en la secuencia de ácido nucléico que se muestra en el ID
SEC NO: 53 se indican en negrita, subrayado y letras sombreadas. Los CDRs en la
secuencia de aminoácidos mostrada en el ID SEC NO: 54 se indican en las letras con
doble subrayado, mientras que los residuos modificados están sin negrita, cursiva y
sombreado gris.

Secuencia de ácido nucléico > 15E6FK VH (ID SEC NO: 53)

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGG
CAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAGGCAGTGGTGG
CATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAA
GAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTA
CTGTGCAAGAGATATCGGGGGGTTTCGGGGAGTTTTACTGGAAGTTCGGTCTCTGGGG
CCGTGGCACCTGGTCACTGTCTCTCA

Secuencia de aminoácidos > 15E6FK VH (ID SEC NO: 54)

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWSSG
GIGYADSVKGRFTISRADNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDIGGFGEFYWNFGLWG
RGTLVTVSS

En la ID SEC NO: 54, NS fue cambiado a SS en CDR2 para prevenir la potencial
desamidación de Asn, y Met fue cambiado a Ile para prevenir la potencial oxidación del
azufre de metionina.

El anticuerpo 39F12A comparte una región variable de cadena pesada con el anticuerpo
39F12 progenitor (ID SEC NO: 18) codificado por la secuencia de ácido nucléico que se
muestra en el ID SEC NO: 17, e incluye una región variable de cadena ligera (ID SEC NO:
56) codificada por la secuencia de ácido nucléico que se muestra en el ID SEC NO: 55.
Los residuos modificados en la secuencia de ácido nucléico que se muestra en el ID SEC
NO: 55 se indican en negrita, subrayado y con letras sombreadas. Los CDRs en la
secuencia de aminoácidos mostrada en el ID SEC NO: 56 se indica en las letras con

43

doble subrayado, mientras que los residuos modificados están sin negrita, cursiva y sombreado gris.

Secuencia de ácido nucléico > 39F12A VL (ID SEC NO: 55)

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGACTTTCAGTCTGTGACTCCAAAGGAGAAAGTCA
5 CCATCACCTGCCGGGCCAGTCAGAGCATTGGTAGTAGCTTACACTGGTACCAGCAGA
AACCAGATCAGTCTCCAAAGCTCCTCATCAAGTATGCTTCCCAGTCCTTCTCAGGGGT
CCCCTCGAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTACCCCTCACCATCAATAG
CCTGGAAGCTGAAGATGCTGCAACGTATTACTGTCATCAGAGTAGTAGTTTACCGTG
GACGTTCCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA

Secuencia de aminoácidos > 39F12A VL (ID SEC NO: 56)

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAIYYCHQSSSLPWTFGQGTKVEIK

En la ID SEC NO: 56, una retromutación de Ala a Thr se introdujo en el marco 3.

Cada una de estas variantes, adicionalmente comprender, por ejemplo, las regiones
15 determinantes de la complementariedad de la cadena pesada (VH CDR) como se muestra
a continuación en la Tabla 1, las regiones determinantes de la complementariedad de la
cadena ligera (VL CDR) como se muestra en la Tabla 2, y combinaciones de las mismas.
Las modificaciones a VH CDRs en estos clones se muestran en la Tabla 1 en cursiva,
negrita, y con letras subrayadas.

Tabla 1. Secuencias VH CDR de los clones de anticuerpos que se unen y neutralizan la actividad biológica de hull-17A / F

ID del Clon	CDR1 pesada	CDR2 pesada	CDR3 pesada	Familia de genes
30D12 IgG1	SYDIN (ID SEC NO:57)	WMNPDSGVIRYAQKFQG (ID SEC NO:58)	EWFGELPSYYFYSGMDV (ID SEC NO:59)	IGHV1-8
29D8 IgG1	TYGIS (ID SEC NO:60)	WISAYNSNTNYAQKVQG (ID SEC NO:61)	FFGGHSGYHYGLDV (ID SEC NO:62)	IGHV1-18
1E4 IgG4	TYGIS (ID SEC NO:60)	WISVYNGNTNYGQNFQG (ID SEC NO:63)	FHGGHSGYHYGLDV (ID SEC NO:64)	IGHV1-18
31A3 IgG1	TYGIS (ID SEC NO:60)	WITVYNGNTNYAQKFHG (ID SEC NO:65)	FHGGHSGYHYGLDV (ID SEC NO:64)	IGHV1-18
4B11 IgG1	SRSYYWG (ID SEC NO:66)	SIYYSGSTYYNPSLKS (ID SEC NO:67)	VSGWNGNWFDV (ID SEC NO:68)	IGHV3-9
39F12 IgG4	SYAFS (ID SEC NO:69)	GIIPFFGTTNYAQKFQG (ID SEC NO:70)	DRDYYGLGSPFYYYGMDV (ID SEC NO:71)	IGHV1-69
12B12 IgG4	SYAFS (ID SEC NO:69)	GIIPFFGTVNYAQKFQG (ID SEC NO:72)	DRDYYGLGSPLHYGLDV (ID SEC NO:73)	IGHV1-69
15B7 IgG4	SYAFS (ID SEC NO:69)	GIIPFFGTAHYAQKFQG (ID SEC NO:74)	DRDYYGSGSPFHFGSLDV (ID SEC NO:75)	IGHV1-69
4H11 IgG1	GSSMH (ID SEC NO:76)	RIRSKANSYATAYAASVIG (ID SEC NO:77)	SVATTLTDYYGMDV (ID SEC NO:78)	IGHV3-73
8B11 IgG3	SFNMD (ID SEC NO:79)	SISTTSRIYSADSVKG (ID SEC NO:80)	VSYYGHGFDY (ID SEC NO:81)	IGHV3-48
38B1 IgG1	DFAMH (ID SEC NO:82)	GINWNSGSIGYADSVKG (ID SEC NO:83)	DIAAAGEFYFDMV (ID SEC NO:84)	IGHV3-9
15E6 IgG4	DYAMH (ID SEC NO:85)	GINWNSGGIGYADSVKG (ID SEC NO:86)	DMGGFGEFYWNFGL (ID SEC NO:87)	IGHV3-9

44

5E12 IgG4	DYAMH (ID SEC NO:85)	GISWNSGTIGYADSVKG (ID SEC NO:88)	ELYISDWDSYSYGMDV (ID SEC NO:89)	IGHV3-9
41B10 IgG4	NAWMS (ID SEC NO:90)	RIKSKTDGGTTDYVAPVKG (ID SEC NO:91)	SYSSYWFPYYFDY (ID SEC NO:92)	IGHV3-15
30D12BF	SYDIN (ID SEC NO:57)	W _L NPD _S SGVIRYAQKFQG (ID SEC NO:93)	EWFGELPSYYFYSGMDV (ID SEC NO:59)	IGHV1-8
15E6FK IgG1	DYAMH (ID SEC NO:85)	GINW _S SSGGIGYADSVKG (ID SEC NO:94)	D _I GGFGEFYWNFGL (ID SEC NO:95)	IGHV3-9

45

Tabla 2. VL CDR secuencias de clones de anticuerpos que se unen y neutralizan la IL-17F

ID del clon	CDR1 ligera	CDR2 ligera	CDR3 ligera	Familia de genes
30D12	RASQSVSSYLA (ID SEC NO:96)	DASNRAT (ID SEC NO:97)	QQRSNWPPT (ID SEC NO:98)	IGKV3-11, IGKJ3
29D8	RASQSVSSYLA (ID SEC NO:96)	DASNRAT (ID SEC NO:97)	QQRSNWPPYT (ID SEC NO:99)	IGKV3-11
1E4	RASQSVSSYLA (ID SEC NO:96)	DASNRAT (ID SEC NO:97)	QQRSNWPPYT (ID SEC NO:99)	IGKV3-11
31A3	RASQSVSSYLA (ID SEC NO:96)	DASNRAT (ID SEC NO:97)	QQRSNWPPYT (ID SEC NO:99)	IGKV3-11
4H11	RASQSVSSYLA (ID SEC NO:96)	DASNRAT (ID SEC NO:97)	QQRSNWPPFT (ID SEC NO:100)	IGKV3-11
4B11	RASQSVSSSYLA (ID SEC NO:101)	GASSRAT (ID SEC NO:102)	QQYGSSPIT (ID SEC NO:103)	IGKV3-20, IGKJ5
39F12	RASQSIGSSLH (ID SEC NO:104)	YASQSFS (ID SEC NO:105)	HQSSSLPWT (ID SEC NO:106)	IGKV6-21
12B12	RASQSIGSSLH (ID SEC NO:104)	YASQSFS (ID SEC NO:105)	HQSSSLPWT (ID SEC NO:106)	IGKV6-21
15B7	RASQSIGSSLH (ID SEC NO:104)	YASQSFS (ID SEC NO:105)	HQSSSLPWT (ID SEC NO:106)	IGKV6-21
8B11	RASQGISSWLA (ID SEC NO:107)	AASSLQS (ID SEC NO:108)	QQYNSYPLT (ID SEC NO:109)	IGKV1D-16
38B1	RASQSVSSYLA (ID SEC NO:96)	DASNRAT (ID SEC NO:97)	QQRSNWPP-T (ID SEC NO:98)	IGKV3-11, IGKJ2
15E6	RASQSVRSYLA (ID SEC NO:110)	DASNRAT (ID SEC NO:97)	QQRSNWPPAT (ID SEC NO:111)	IGKV3-11, IGKJ4
5E12	RASQSVSSSYLA (ID SEC NO:101)	GASSRAT (ID SEC NO:102)	QQYGSSP (ID SEC NO:112)	IGKV3-20
41B10	RASQGISSWLA (ID SEC NO:107)	AASSLQS (ID SEC NO:108)	QQYNSYPIT (ID SEC NO:113)	IGKV1D-16

Los aminoácidos que abarcan las regiones determinantes de la complementariedad (CDR), son como se definen por E. A. Kabat y otros. (Ver Kabat, EA, y otros, Sequences of Protein of immunological interest, Fifth Edition, US Department of Health and Human Services, US Government Printing Office (1991)).

También se incluyen en la invención los anticuerpos que se unen al mismo epítipo como los anticuerpos descritos en este documento. Por ejemplo, los anticuerpos de la invención se unen específicamente a IL-17F, en donde el anticuerpo se une a un epítipo que incluye uno o más residuos de aminoácidos en IL-17F humana (Nº de acceso AAH70124). Los anticuerpos de la invención se unen específicamente a IL-17F y IL-17A cuando no se acomplejan juntos, en donde el anticuerpo se une a un epítipo que incluye uno o más residuos de aminoácidos de IL-17F humana, IL-17^a humana (por ejemplo, No de acceso AAH67505), o ambos. Los anticuerpos de la invención se unen específicamente a IL-17F y el complejo heterodimérico IL-17A/IL-17F, en donde el anticuerpo se une a un epítipo de IL-17F (por ejemplo, Nº de acceso AAH70124) y/o un epítipo de IL- 17A humana (por ejemplo, Nº de acceso AAH67505). Los anticuerpos de la invención se unen

específicamente a ambos IL-17F, IL-17A y IL-17A/IL-17F en donde el anticuerpo se une a un epítipo de la IL-17F humana (por ejemplo, N° de acceso AAH70124) y/o un epítipo en IL-17^a humana (por ejemplo, N° de acceso AAH67505).

Los expertos en la técnica reconocerán que es posible determinar, sin experimentación indebida, si un anticuerpo monoclonal (por ejemplo, el anticuerpo monoclonal totalmente humano) tiene la misma especificidad que un anticuerpo monoclonal de la invención (por ejemplo, los clones 30D12, 29D8, 1E4, 31A3, 5E12, 39F12, 12B12, 15B7, 4H11, 41B10, 8B11, 38B1, 15E6, 30D12BF, 15E6FK y 39F12A) mediante determinar si el primero impide que éstos se unan a la IL-17F, IL-17A, y/o el complejo IL-17A/IL-17F. Si el anticuerpo monoclonal que es probado compite con el anticuerpo monoclonal de la invención, como se muestra por una disminución en la unión del anticuerpo monoclonal de la invención, entonces, los dos anticuerpos monoclonales se unen al mismo, o un epítipo estrechamente relacionados.

Un método alternativo para determinar si un anticuerpo monoclonal tiene la especificidad del anticuerpo monoclonal de la invención es pre- incubar el anticuerpo monoclonal de la invención con la proteína IL-17F, IL-17A o IL-17A/IL-17F soluble (con la que normalmente se reactiva), y luego añadir el anticuerpo monoclonal que se está probando para determinar si el anticuerpo monoclonal que se está probando se inhibe en su capacidad de unir la IL-17F, IL-17A y/o el complejo IL-17A/IL-17F. Si el anticuerpo monoclonal que se está probando se inhibe entonces, con toda probabilidad, tiene la misma, o funcionalmente equivalente, especificidad epitópica como el anticuerpo monoclonal de la invención.

El cribado de anticuerpos monoclonales de la invención, puede también llevarse a cabo, por ejemplo, mediante la medición de IL-17F, IL-1A y/o la producción de quimioquinas y/o inducida por citoquinas IL-17A/IL-17F (por ejemplo, la IL-6, IL-8, G-CSF, GM-CSF, GRO- α , GRO-b, LIX, GCP-2, MIG, IP10, I-TAC, y MCP-1, RANTES, eotaxina, SDF-1, y MIP3a) y determinar si la prueba de anticuerpos monoclonales es capaz de modular, bloquear, inhibir, reducir, antagonizar, neutralizar o de otra manera interferir con la IL-17F, la IL-1A y/o inducida por citoquinas IL-17F/IL-17A y/o la producción de quimioquinas.

Varios procedimientos conocidos en el arte se pueden utilizar para la producción de anticuerpos monoclonales dirigidos contra la IL-17F, IL-17A, y/o IL-17A/IL-17F, o en contra de derivados, fragmentos, homólogos, análogos u ortólogos de las mismas. (Véase, por ejemplo, *antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow E y Lane D, 1988, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, incorporado en este documento mediante la referencia). Completamente los anticuerpos humanos son moléculas de anticuerpos en las que la secuencia completa tanto de la cadena ligera y la cadena pesada, incluyendo los CDRs, se deben a los genes humanos. Dichos anticuerpos se denominan en este documento "anticuerpos humanos", o "anticuerpos completamente humanos". Los anticuerpos humanos monoclonales están preparados, por ejemplo, utilizando los procedimientos descritos a continuación en los ejemplos. Los anticuerpos

monoclonales humanos también pueden ser preparados mediante la utilización de la técnica de trioma; la técnica del hibridoma de células B humanas (véase Kozbor, y otros, 1983 Immunol Today 4: 72); y la técnica del hibridoma EBV para producir anticuerpos monoclonales humanos (véase Cole, y otros, 1985 En: MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, Alan R. Liss, Inc., páginas 77-96). Los anticuerpos monoclonales humanos pueden ser utilizados y se pueden producir utilizando hibridomas humanos (véase Cote, y otros, 1983, Proc Natl Acad Sci EEUU 80:2026-2030) o mediante la transformación de las células B humanas con virus Epstein Barr *in vitro* (véase Cole, y otros, 1985 En: MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, Alan R. Liss, Inc., páginas 77-96).

Los anticuerpos son purificados por técnicas bien conocidas, tales como la cromatografía de afinidad utilizando la proteína A o la proteína G, que proporcionan principalmente la fracción de IgG del suero inmune. Posteriormente, o alternativamente, el antígeno específico que es el objetivo de la inmunoglobulina buscada, o un epítipo de la misma, puede ser inmovilizado en una columna para purificar al anticuerpo específico inmune mediante cromatografía de inmunoafinidad. La purificación de inmunoglobulinas se discute, por ejemplo, por el D. Wilkinson (The Scientist, publicado por The Scientist, Inc., Filadelfia PA, Vol. 14, Nº 8 (17 de abril de 2000), páginas 25-28).

Los anticuerpos de la invención (*por ejemplo*, 30D12, 29D8, 1E4, 31A3, 5E12, 39F12, 12B12, 15B7, 4H11, 41B10, 8B11, 38B1, 15E6, 30D12BF, 15E6FK y 39F12A) son anticuerpos monoclonales completamente humanos. Los anticuerpos monoclonales que modulan, bloquean, inhiben, reducen, antagonizan, neutralizan o de otra manera interfieren con la producción de citoquinas pro-inflamatorias mediadas por IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F se generan, *por ejemplo*, mediante la inmunización de un animal con IL-17F o IL-17A/IL-17F, tal como, por ejemplo, murino, rata o IL-17F humano o IL-17A/IL-17F o un fragmento inmunogénico, derivado o variante del mismo.

Alternativamente, el animal está inmunizado con células transfectadas con un vector que contiene una molécula de ácido nucleído que codifica la IL-17F o IL-17A/IL-17F, de manera que la IL-17F o IL-17A/IL-17F se expresa y se asocia con la superficie de las células transfectadas. Alternativamente, los anticuerpos son obtenidos mediante el cribado de una biblioteca que contiene al antígeno o anticuerpo que enlaza las secuencias de unión del dominio para la unión de la IL-17F o IL-17A/IL-17F. Esta biblioteca está preparada, por ejemplo, en el bacteriófago como fusiones de proteína o péptido a una proteína de la cápside del bacteriófago que se expresa en la superficie de las partículas de fago ensambladas y la codificación de las secuencias de ADN contenidas dentro de las partículas de fagos (*es decir*, "la biblioteca de fagos expuestos"). Los Hibridomas resultantes de fusiones de células B/mieloma entonces se criban para la reactividad a la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F.

Los anticuerpos monoclonales se preparan, por ejemplo, utilizando los métodos de hibridomas, tales como los descritos por Kohler y Milstein, Nature, 256:495 (1975). En un

método de hibridoma, un ratón, hámster u otro animal huésped apropiado, suele ser inmunizado con un agente de inmunización para obtener los linfocitos que producen o son capaces de producir anticuerpos que se unirán específicamente a la agente inmunizante. Alternativamente, los linfocitos pueden ser inmunizados *in vitro*.

- 5 El agente de inmunización, habitualmente incluye el antígeno de la proteína, un fragmento de la misma o una proteína de fusión de la misma. En general, se utilizan cualquiera de los linfocitos de sangre periférica si se desean las células de origen humano, o las células del bazo o de células de los ganglios linfáticos se utilizan si se desean las fuentes de los mamíferos no humanos. Los linfocitos se fusionan luego con una línea celular
- 10 inmortalizada que utiliza un agente de fusión adecuado, tal como polietilenglicol, para formar una célula de hibridoma (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, (1986) páginas 59-103). Las líneas celulares inmortalizadas suelen ser células de mamífero transformadas, en particular las células de mieloma de roedores, bovino y de origen humano. Por lo general, se emplean las líneas celulares de mieloma
- 15 de ratón o rata. Las células de hibridoma pueden ser cultivadas en un medio de cultivo adecuado que contiene preferiblemente una o varias sustancias que inhiben el crecimiento o la supervivencia de las células inmortalizadas, no fusionadas. Por ejemplo, si las células progenitoras carecen de la enzima hipoxantina guanina fosforribosil transferasa (HGPRT o HPRT), el medio de cultivo para los hibridomas normalmente
- 20 incluirá hipoxantina, aminopterina y timidina ("medio HAT"), cuyas sustancias impiden el crecimiento de las células deficientes de HGPRT.

Las líneas celulares inmortalizadas preferidas son aquellas que se fusionan de manera eficiente, dan soporte estable de alto nivel a la expresión de anticuerpos mediante las células productoras de anticuerpos seleccionados, y son sensibles a un medio, tal como el

- 25 medio HAT. Las líneas celulares inmortalizadas más preferidas son las líneas de mieloma murino, que se pueden obtener, por ejemplo, a partir del Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California, y the American Type Culture Collection, Manassas, Virginia. El mieloma humano y las líneas celulares de heteromieloma ratón-humano también se han descrito para la producción de anticuerpos monoclonales. (Véase Kozbor,
- 30 J. Immunol, 133:3001 (1984); Brodeur y otros, monoclonal Antibody production Techniques and Applications, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, (1987) páginas 51-63)).

El medio de cultivo en el que son cultivadas las células de hibridoma a continuación, se puede ensayar para la presencia de anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno. Preferiblemente, la especificidad de unión de los anticuerpos monoclonales

- 35 producidos por las células de hibridoma se determina por inmunoprecipitación o por un ensayo de unión *in vitro*, tal como el radioinmunoanálisis (RIA) o el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). Dichas técnicas y ensayos son conocidos en el arte. La afinidad de unión del anticuerpo monoclonal puede, por ejemplo, determinarse por el análisis de Scatchard de Munson y Pollard, Anal. Biochem., 107:220
- 40 (1980). Por otra parte, en las aplicaciones terapéuticas de los anticuerpos monoclonales,

es importante identificar los anticuerpos que tienen un alto grado de especificidad y una alta afinidad de unión al antígeno objetivo.

Después de que las células de hibridoma deseadas son identificadas, los clones se pueden subclonar mediante procedimientos de dilución limitante y cultivo mediante métodos convencionales. (Véase Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, (1986) páginas 59-103). Los medios de cultivo adecuados para este propósito incluyen, por ejemplo, el medio de Eagle modificado por Dulbecco y el medio RPMI-1640. Alternativamente, las células de hibridoma se pueden cultivar *in vivo* como ascitis en un mamífero.

10 Los anticuerpos monoclonales secretados por los subclones pueden aislarse o purificarse del medio de cultivo o del líquido ascítico mediante procedimientos convencionales de purificación de inmunoglobulinas, tales como por ejemplo, la proteína Sefarosa A, cromatografía de hidroxapatita, electroforesis en gel, diálisis, o cromatografía de afinidad.

Los anticuerpos monoclonales también se pueden hacer por métodos de ADN recombinante, tales como aquellos descritos en la patente de EE.UU. N° 4,816,567. El ADN que codifica los anticuerpos monoclonales de la invención pueden ser fácilmente aislados y secuenciados utilizando procedimientos convencionales (*por ejemplo*, mediante la utilización de sondas de oligonucleótidos que son capaces de enlazarse específicamente a los genes que codifican las cadenas pesadas y ligeras de los anticuerpos murinos). Las células de hibridoma de la invención sirven como una fuente preferida de dicho ADN. Una vez aislado, el ADN puede ser colocado en vectores de expresión, que luego son transfectados en células huésped, tales como las células COS de simios, de ovario de hámster chino (CHO), o células de mieloma que de otra manera no producen la proteína inmunoglobulina, para obtener la síntesis de los anticuerpos monoclonales en las células huésped recombinante. El ADN también se puede modificar, por ejemplo, mediante la sustitución de la secuencia de codificación para los dominios constantes de la cadena pesada y ligera humana en lugar de las secuencias homólogas murinas (véase la patente de EE.UU. N° 4,816,567; Morrison, Nature 368, 812 13 (1994)) o por enlazarse covalentemente a la secuencia de codificación de inmunoglobulina todo o parte de la secuencia de codificación para un polipéptido sin inmunoglobulina. Este polipéptido sin inmunoglobulina puede ser sustituido por los dominios constantes de un anticuerpo de la invención, o puede ser sustituido por los dominios variables de un sitio de combinación del antígeno de un anticuerpo de la invención para crear un anticuerpo quimérico bivalente.

35 Anticuerpos Humanos y Humanización de los Anticuerpos

Los anticuerpos monoclonales de la invención incluyen anticuerpos totalmente humanos o anticuerpos humanizados. Estos anticuerpos son adecuados para la administración a los seres humanos sin generar una respuesta inmune por el humano contra la inmunoglobulina administrada.

Un anticuerpo huIL-17A/F se genera, por ejemplo, utilizando los procedimientos descritos en los ejemplos proporcionados a continuación.

En otros métodos alternativos, se desarrolla un anticuerpo huIL-17A/F, por ejemplo, utilizando los métodos de visualización de fagos que utilizan anticuerpos que contienen sólo secuencias humanas. Estos planteamientos son bien conocidos en el arte, *por ejemplo*, en WO92/01047 y la Patente de EE.UU. N° 6,521,404, que se incorporan en este documento mediante referencia. En este enfoque, una biblioteca combinatoria del fago que lleva pares aleatorios de las cadenas ligeras y pesadas se criban utilizando fuentes naturales o recombinantes de IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F o fragmentos de los mismos. En otro enfoque, un anticuerpo huIL-17F puede ser producido por un proceso en donde al menos un paso del proceso incluye la inmunización de un animal transgénico, no humano con la proteína IL-17F humana. En este enfoque, algunos de los locus endógenos de la cadena ligera kappa y/o pesada de este animal xenogénico no humano han sido desactivados y son incapaces de la reorganización necesaria para generar los genes que codifican las inmunoglobulinas en respuesta a un antígeno. Además, al menos un locus de la cadena pesada humana y al menos un locus de la cadena ligera humana han sido transfectados establemente en el animal. Así, en respuesta a un antígeno administrado, los locus humanos se rearreglan para proporcionar los genes que codifican las regiones variables inmunoespecíficas humanas para el antígeno. Tras la inmunización, por lo tanto, el Xenorotón produce células B que secretan inmunoglobulinas completamente humanas.

Una variedad de técnicas son bien conocidas en la técnica para producir animales xenogénicos no humanos. Por ejemplo, véase la patente de EE.UU. N° 6,075,181 y N° 6,150,584, que se incorpora en su totalidad en este documento mediante referencia. Esta estrategia general fue demostrada en relación con la generación de las primeras cepas de XenoMouse™ como se publicó en 1994. Véase Green y otros Nature Genetics 7:13-21 (1994), que se incorpora en este documento mediante referencia en su totalidad. Véase también, la patente de EE.UU. N° 6,162,963, 6,150,584, 6,114,598, 6,075,181 y 5,939,598 y las patentes japonesas números 3 068 180 B2, 3 068 506 B2, y 3 068 507 B2 y la Patente Europea N° EP 0 463 151 B1 y las solicitudes internacionales de patente No. WO94/02602, WO 96/34096, WO98/24893, WO00/76310 y los miembros de la familia relacionadas.

En un enfoque alternativo, otros han utilizado un enfoque de "minilocus" en el que un locus de Ig exógena es imitado a través de la inclusión de piezas (genes individuales) del locus de Ig. Por lo tanto, uno o más genes V_H, uno o más genes de D_H, uno o más genes J_H, una región constante mu, y una segunda región constante (de preferencia una región constante gamma) se forman en una construcción para la inserción en un animal. Véase, *por ejemplo*, la patente de EE.UU. N° 5,545,806; 5,545,807; 5,591,669; 5,612,205; 5,625,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,643,763; 5,661,016; 5,721,367; 5,770,429; 5,789,215; 5,789,650; 5,814,318; 5,877,397; 5,874,299; 6,023,010 y 6,255,458, y la Patente Europea

51

No. 0 546 073 B1; y la Solicitud de Patente Internacional No. WO92/03918, WO92/22645, WO92/22647, WO92/22670, WO93/12227, WO94/00569, WO94/25585, WO96/14436, WO97/13852, WO 98/24884 y los miembros relacionados con la familia.

5 La generación de anticuerpos humanos a partir de ratones en los que, a través de la fusión microcelular, grandes piezas de cromosomas o cromosomas completos, se han introducido, también ha sido demostrada. Véase la solicitud de la Patente Europea N° 773 288 y 843 961.

Las respuestas del anticuerpo humano anti-ratón (HAMA, por sus siglas en inglés) han llevado a la industria a preparar anticuerpos quiméricos o humanizados de otra manera.

10 Mientras que los anticuerpos quiméricos tienen una región constante humana y una región variable inmune, se espera que sean observadas las respuestas de ciertos anticuerpos anti-humanos quiméricos (HACA, por sus siglas en inglés), en particular, en utilizations del anticuerpo en dosis crónicas o múltiples. Por lo tanto, sería deseable proporcionar anticuerpos totalmente humanos contra la IL-17F, la IL-17A y/o IL-17A/IL-

15 17F con el fin de desvirtuar o de otra manera mitigar las preocupaciones y/o los efectos de la respuesta del HAMA o HACA.

La producción de anticuerpos con inmunogenicidad reducida también se logra a través de técnicas de humanización, quimerización y visualización utilizando las bibliotecas apropiadas. Se apreciará que los anticuerpos murinos o los anticuerpos de otras especies

20 puedan ser humanizados o primatizados utilizando técnicas bien conocidas en el arte. Véase, por ejemplo, Winter and Harris Immunol Today 14:43 46 (1993) y Wright y otros Crit. Reviews in Immunol. 12:125-168 (1992). El anticuerpo de interés puede ser modificado por técnicas de ADN recombinante para sustituir el CH1, CH2, CH3, dominios bisagra y/o el dominio marco con la secuencia humana correspondiente (Véase

25 WO92102190 y la patente de EE.UU. N° 5,530,101, 5,585,089, 5,693,761, 5,693,792, 5,714,350 y 5,777,085). Además, es conocido en el arte el uso del ADNc de Ig para la construcción de los genes de la inmunoglobulina quimérica (Liu y otros P.N.A.S. 84:3439 (1987) y J. Immunol. 139:3521 (1987)). El ARNm se aísla de un hibridoma u otra célula que produzca el anticuerpo y se utiliza para producir el ADN. El ADNc de interés puede

30 ser amplificado por la reacción en cadena de la polimerasa utilizando cebadores específicos (Pat. de EE.UU. N° 4,683,195 y 4,683,202). Alternativamente, una biblioteca se hace y se criba para aislar la secuencia de interés. La secuencia de ADN que codifica la región variable del anticuerpo se fusiona luego a las secuencias de la región constante humana. Las secuencias de los genes de regiones constantes humanas se pueden

35 encontrar en Kabat y otros (1991). Sequences of Proteins of immunological Interest, N.I.H. No. de publicación 91-3242. Los genes de la región C humanos están fácilmente disponibles a partir de clones conocidos. La elección del isotipo se guiará por las funciones efectoras deseadas, tales como la fijación del complemento o la actividad en la citotoxicidad celular dependiente del anticuerpo. Son isotipos preferidos IgG1, IgG3 e

40 IgG4. Pueden ser utilizadas cualquiera de las regiones constantes de cadena cadena

52

ligera humana, kappa o lambda. El anticuerpo quimérico, humanizado se expresa entonces por métodos convencionales.

Los fragmentos de anticuerpos, tales como Fv, F (ab')₂ y Fab se pueden preparar por la escisión de la proteína intacta, por ejemplo, por la proteasa o escisión química.

- 5 Alternativamente, se diseña un gen truncado. Por ejemplo, un gen quimérico que codifica una porción del fragmento F(ab')₂ podría incluir las secuencias de ADN que codifican el dominio CH1 y región bisagra de la cadena H, seguido por un codón de parada traslacional para producir la molécula truncada.

- 10 Las secuencias de consenso de las regiones H y L J se pueden utilizar para diseñar oligonucleótidos para su uso como cebadores para introducir sitios de restricción útiles en la región J para la vinculación posterior de los segmentos de la región V para los segmentos de la región C humana. ADNc de la región C puede ser modificado por la mutagénesis dirigida al sitio para colocar un sitio de restricción en la posición análoga en la secuencia humana.

- 15 Los vectores de expresión incluyen plásmidos, retrovirus, YACs, episomas derivados de EBV, y similares. Un vector conveniente es uno que codifica una secuencia CL o CH de inmunoglobulina humana de funcionalidad completa, con sitios de restricción apropiados modificado tal que cualquier secuencia VH y VL pueda insertarse fácilmente y expresarse. En dichos vectores, el empalme o "splicing" por lo general se produce entre el sitio
20 donante del empalme en la región J insertada y el sitio aceptor del empalme anterior a la región C humana, y también en las regiones de empalme que se producen en los exones CH humanos. La terminación de la transcripción y Poliadenilación se producen en sitios nativos cromosómicos corriente abajo de las regiones de codificación. El anticuerpo quimérico resultante puede enlazarse a cualquier promotor fuerte, incluyendo LTRs
25 retrovirales, *por ejemplo*, el promotor temprano SV-40, (Okayama y otros Mol. Cell. Bio. 3:280 (1983)), el LTR del virus del sarcoma de Rous (Gorman y otros P.N.A.S. 79:6777 (1982)), y LTR del virus de la leucemia murina de Moloney (Grosschedl y otros Cell 41:885 (1985)). Además, como se apreciará, se pueden utilizar los promotores nativos de Ig y similares.

- 30 Además, los anticuerpos humanos o los anticuerpos de otras especies se pueden generar a través de tecnologías tipo visualización "display", incluyendo, sin limitación, visualización de fagos, visualización retroviral, visualización ribosomal, y otras técnicas, que utilizan técnicas bien conocidas en el arte y que producen moléculas que pueden ser objeto de maduración adicional, tales como maduración de la afinidad, ya que estas técnicas son
35 bien conocidas en el arte. Wright y otros Crit. Reviews in Immunol. 12:125-168 (1992), Hanes y Plückthun PNAS EE.UU. 94:4937-4942 (1997) (visualización ribosomal), Parmley y Smith Gene 73:305-318 (1988) (visualización de fagos), Scott, TIBS, vol. 17:241-245 (1992), Cwirla y otros PNAS EE.UU. 87:6378-6382 (1990), Russel y otros Nucl. Acids Research 21:1081-1085 (1993), Hoganboom y otros Immunol. Reviews 130:43-68 (1992),
40 Chiswell y McCafferty TIBTECH, 10:80-8A (1992), y la patente de EE.UU. N° 5,733,743.

Si las tecnologías de visualización se utilizan para producir anticuerpos que no son humanos, tales anticuerpos pueden ser humanizados como se describe anteriormente.

Utilizando estas técnicas, los anticuerpos se pueden generar para IL-17F, IL-17A y/o las células que expresan IL-17A/IL-17F, IL-17F a sí misma, las formas de IL-17F y/o IL-17A, los epítomos o péptidos de las mismas, y las bibliotecas de expresión de ellas (Véase, *por ejemplo*, la patente de EE.UU. N° 5,703,057), que posteriormente se pueden cribar como se describe más arriba para las actividades descritas en este documento.

Los anticuerpos huIL-17A/F de la invención pueden ser expresados por un vector que contiene un segmento de ADN que codifica el anticuerpo de cadena simple descrito anteriormente.

Estos pueden incluir vectores, liposomas, ADN desnudo, ADN asistido por adyuvante, pistola de genes, catéteres, etc. Los vectores incluyen conjugados químicos tales como los descritos en el documento WO93/64701, que tiene fracciones blanco (*por ejemplo*, un ligando para un receptor de superficie celular), y una porción de unión de ácido nucleico (*por ejemplo*, polilisina), vectores virales (*por ejemplo*, un vector de ADN o ARN viral), proteínas de fusión, tales como las descrita en PCT/US 95/02140 (WO95/22618), que es una proteína de fusión que contiene una fracción objetivo (*por ejemplo*, un anticuerpo específico para una célula objetivo) y una fracción de unión de ácido nucleico (*por ejemplo*, una protamina), plásmidos, fagos, etc. Los vectores pueden ser cromosómicos, no cromosómicos o sintéticos.

Los vectores preferidos incluyen los vectores virales, las proteínas de fusión y los conjugados químicos. Los vectores retrovirales incluyen virus de la leucemia murina de Moloney. Se prefieren los vectores de ADN viral. Estos vectores incluyen los vectores de la viruela tales como los vectores ortopox o Avipox, los vectores de virus del herpes, tal como un vector del virus del herpes simple I (HSV, por sus siglas en inglés) (véase Geller, A. I. y otros, J. Neurochem, 64:487 (1995); Lim, F., y otros, en DNA Cloning: Mammalian Systems, D. Glover, Ed. (Oxford Univ. Press, Oxford, Inglaterra.) (1995); Geller, A. I. y otros, Proc Natl. Acad. Sci.: EE.UU. 90:7603 (1993); Geller, A. I., y otros, Proc. Natl. Acad. Sci EE.UU. 87:1149 (1990), vectores de adenovirus (véase LeGal LaSalle y otros, Science, 259:988 (1993); Davidson, y otros Nat. Genet 3:219 (1993); Yang, y otros, J. Virol. 69:2004 (1995) y vectores de virus adeno-asociados (véase Kaplitt, M.G. y otros, Nat Genet. 8:148 (1994).

Los vectores virales Pox introducen el gen en el citoplasma de las células. Los vectores del virus Avipox dan como resultado sólo una expresión a corto plazo del ácido nucleico. Los vectores de adenovirus, los vectores de virus adeno-asociado y los vectores del virus del herpes simple (HSV, por sus siglas en inglés) se prefieren para la introducción del ácido nucleico en células neuronales. El vector de adenovirus da como resultado una expresión en más corto plazo (aproximadamente 2 meses) que el virus adeno-asociado (aproximadamente 4 meses), que a su vez es más corto que los vectores HSV. El vector

particular elegido dependerá de la célula objetivo y la condición que se esté tratando. La introducción puede ser por medio de técnicas estándar, *por ejemplo*, infección, transfección, transducción o transformación. Ejemplos de los modos de transferencia de genes incluyen, *por ejemplo*, ADN desnudo, la precipitación de CaPO_4 , DEAE dextrano, electroporación, fusión de protoplastos, lipofección, microinyección de células, y vectores virales.

El vector puede ser empleado para apuntar esencialmente a cualquier célula objetivo deseada. Por ejemplo, la inyección estereotáctica puede ser utilizada para dirigir los vectores (*por ejemplo*, adenovirus, HSV, por sus siglas en inglés) a una ubicación deseada. Además, las partículas pueden ser entregadas por infusión intracerebroventricular (ICV) utilizando un sistema de infusión de minibomba, tal como un sistema de infusión SynchroMed. Un método basado en el flujo a granel, denominado convección, también ha demostrado eficacia en la entrega de grandes moléculas a extensas áreas del cerebro y puede ser útil en la entrega del vector a la célula diana. (Véase Bobo y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 91:2076-2080 (1994); Morrison y otros, Am. J. Physiol. 266:292-305 (1994)). Otros métodos que pueden utilizarse incluyen catéteres intravenosos, inyección por vía parenteral, intraperitoneal y subcutánea, y oral u otras rutas conocidas de administración.

Estos vectores pueden ser utilizados para expresar grandes cantidades de anticuerpos que se pueden utilizar en una variedad de maneras. Por ejemplo, para detectar la presencia de IL-17F, IL-17A y/o el complejo IL-17A/IL-17F en una muestra. El anticuerpo se puede también utilizar para tratar de enlazar a e interrumpir la señalización relacionada con IL-17F, la IL-17A y/o IL-17A/IL-17F.

Las técnicas se pueden adaptar para la producción de anticuerpos de cadena simple específicos para una proteína antigénica de la invención (véase, *por ejemplo*, la patente de EE.UU. N° 4,946,778). Además, los métodos pueden ser adaptados para la construcción de bibliotecas de expresión de F_{ab} (véase, *por ejemplo*, Huse, y otros, 1989 Science 246:1275-1281) para permitir la identificación rápida y eficaz de los fragmentos F_{ab} monoclonales con la especificidad deseada para una proteína o derivados, fragmentos, análogos o sus homólogos. Los fragmentos de anticuerpo que contienen los idiotipos para un antígeno de la proteína pueden ser producidos por técnicas conocidas en el arte, incluyendo pero no limitados a: (i) un fragmento $F_{(ab)2}$ producido por la digestión de la pepsina de una molécula de anticuerpo, (ii) un fragmento F_{ab} generado por la reducción de los puentes disulfuro de un fragmento $F_{(ab)2}$, (iii) un fragmento F_{ab} generado mediante el tratamiento de la molécula de anticuerpo con papaína y un agente reductor y (iv) fragmentos F_v .

La invención también incluye F_v , F_{ab} , $F_{ab'}$ y $F_{(ab)2}$ fragmentos anti-IL-17F o fragmentos del complejo anti-IL-17A/IL-17F, anticuerpos de cadena simple anti-IL-17F, o anti-IL-17A/IL-17F, anticuerpos biespecíficos anti-IL-17F, IL-17A y/o anti-IL-17A/IL-17F y anticuerpos heteroconjugados anti-IL-17F, IL-17A y/o anti-IL-17A/IL-17F.

55

Los anticuerpos biespecíficos son anticuerpos que tienen especificidades de unión por al menos dos antígenos diferentes. En el presente caso, una de las especificidades de unión es para IL-17F, la IL-17A y/o el complejo IL-17A/IL-17F. El segundo objetivo de unión es cualquier otro antígeno, y ventajosamente es una proteína de la superficie celular o receptor o subunidad del receptor.

Los métodos para producir anticuerpos biespecíficos son conocidos en el arte. Tradicionalmente, la producción recombinante de anticuerpos biespecíficos se basa en la co-expresión de dos pares de cadena ligera/cadena pesada de inmunoglobulina, donde las dos cadenas pesadas tienen especificidades diferentes (Milstein y Cuello, Nature, 305:537-539 (1983)). Debido a la mezcla aleatoria de las cadenas ligeras y pesadas de las inmunoglobulinas, estos hibridomas (cuadromas) producen una mezcla potencial de diez moléculas de anticuerpos diferentes, de las cuales sólo una tiene la estructura biespecífica correcta. La purificación de la molécula correcta se realiza normalmente mediante pasos de cromatografía de afinidad. Procedimientos similares se describen en el documento WO93/08829, publicada el 13 de mayo de 1993, y en Traunecker u otros, EMBO J. 10:3655-3659 (1991).

Los dominios variables del anticuerpo con las especificidades de unión deseadas (sitios de combinación antígeno-anticuerpo) se pueden fusionar a las secuencias de dominio constante de la inmunoglobulina. La fusión es preferiblemente con un dominio constante de la cadena pesada de la inmunoglobulina, que comprende al menos parte de la bisagra, regiones CH2, y CH3. Es preferible tener la primera región constante (CH1) de cadena pesada que contiene el sitio necesario para la unión de la cadena ligera presente en al menos una de las fusiones. Los ADNs que codifican las fusiones de la cadena pesada de la inmunoglobulina y, si se desea, la cadena ligera de la inmunoglobulina se insertan en vectores de expresión separados, y son co-transfectados en un organismo huésped adecuado. Para más detalles sobre la generación de anticuerpos biespecíficos véase, por ejemplo, Suresh y otros, Methods in Enzymology, 121:210 (1986).

De acuerdo con otro enfoque descrito en el documento WO96/27011, la interfaz entre un par de moléculas de anticuerpos pueden ser modificados para maximizar el porcentaje de heterodímeros que se recuperan de cultivo de células recombinantes. La interfaz preferida comprende al menos una parte de la región CH3 de un dominio constante del anticuerpo. En este método, una o más cadenas secundarias de aminoácidos pequeños de la interfaz de la primera molécula del anticuerpo se sustituyen con cadenas secundarias grandes (por ejemplo, tirosina o triptófano). "Cavidades" compensatorias de tamaño idéntico o similar a la(s) cadena(s) secundaria(s) de grande (s) se crean en la interfaz de la segunda molécula del anticuerpo mediante la sustitución de las cadenas secundarias de aminoácidos grandes con los más pequeñas (por ejemplo, alanina o treonina). Esto proporciona un mecanismo para aumentar el rendimiento del heterodímero sobre otros productos finales no deseados, como homodímeros.

- Los anticuerpos biespecíficos se pueden preparar como anticuerpos de longitud completa o fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, anticuerpos biespecíficos F(ab')₂). Las técnicas para la generación de anticuerpos biespecíficos da partir de fragmentos de anticuerpos se han descrito en la literatura. Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos se pueden
- 5 preparar utilizando enlaces químico. Brennan y otros Science 229:81 (1985) describen un procedimiento en donde los anticuerpos intactos son proteolíticamente divididos para generar fragmentos F(ab')₂. Estos fragmentos se reducen en presencia de arsenito sódico, agente complejante de ditiol para estabilizar ditiolos vecinales y prevenir la formación de disulfuros intermoleculares. Los fragmentos Fab' generados se convierten,
- 10 entonces a derivados de tionitrobenzoato (TNB, por sus siglas en inglés). Uno de los derivados Fab'-TNB se reconvierte entonces a Fab'-tiol mediante reducción con mercaptoetilamina y se mezcla con una cantidad equimolar de otro derivado Fab'-TNB para formar el anticuerpo biespecífico. Los anticuerpos biespecíficos producidos pueden ser utilizados como agentes para la inmovilización selectiva de las enzimas.
- 15 Además, los fragmentos Fab' se pueden recuperar directamente de E. coli y acoplarse químicamente para formar anticuerpos biespecíficos. Shalaby y otros, J. Exp. Med. 175:217-225 (1992) describen la producción de una molécula del anticuerpo biespecífico totalmente humanizado F(ab')₂. Cada fragmento Fab' se secreta por separado de E. coli y se somete a acoplamiento químico dirigido in vitro para formar el anticuerpo biespecífico.
- 20 El anticuerpo biespecífico así formado fue capaz de enlazarse a las células que sobreexpresan el receptor ErbB2 y las células T humanas normales, así como desencadenar la actividad lítica de los linfocitos citotóxicos humanos contra los objetivos del tumor de mama humano.
- Varias técnicas para hacer y aislar fragmentos de anticuerpos biespecíficos directamente
- 25 a partir de cultivo de células recombinantes también se han descrito. Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos han sido producidos utilizando cremalleras de leucina. Kostelny y otros, J. Immunol. 148 (5):1547-1553 (1992). Los péptidos de la cremallera de leucina de las proteínas jun y Fos fueron enlazadas a las porciones Fab' de dos anticuerpos diferentes mediante fusión de genes. Los homodímeros de anticuerpos se redujeron en la
- 30 región bisagra para formar monómeros y entonces re-oxidarse para formar los heterodímeros de anticuerpos. Este método también puede ser utilizado para la producción de homodímeros de anticuerpos. Tecnología de "diacuerpo" descrita por Hollinger y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 90:6444-6448 (1993) ha proporcionado un mecanismo alternativo para hacer fragmentos de anticuerpos biespecíficos. Los
- 35 fragmentos comprenden un dominio variable de cadena pesada (V_H) conectado a un dominio variable de cadena ligera (V_L) por un enlazador que es demasiado corto para permitir el apareamiento entre los dos dominios en la misma cadena. En consecuencia, los dominios V_H y V_L de un fragmento se ven forzados a emparejarse con los dominios V_L y V_H complementarios de otro fragmento, formando así dos sitios de unión al antígeno.
- 40 Otra estrategia para hacer fragmentos de anticuerpos biespecíficos mediante el uso de

57

dímeros Fv(sFv) de cadena simple también se ha reportado. Véase, Gruber y otros, J. Immunol. 152:5368 (1994).

Se contemplan anticuerpos con más de dos valencias. Por ejemplo, los anticuerpos triespecíficos se pueden preparar. Tutt y otros, J. Immunol. 147:60 (1991).

- 5 Anticuerpos biespecíficos ejemplares se puede unir a dos epítomos diferentes, por lo menos uno de los cuales se origina en el antígeno de la proteína de la invención. Alternativamente, un brazo anti-antigénico de una molécula de inmunoglobulina puede ser combinado con un brazo que se une a una molécula de activación de un leucocito, tal como una molécula del receptor de células T (*por ejemplo*, CD2, CD3, CD28, o B7), o los
- 10 receptores Fc para IgG (FcγR), tal como FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) y FcγRIII (CD16) para enfocarse en mecanismos celulares de defensa para la célula que expresa el antígeno en particular. Los anticuerpos Biespecíficos también se puede utilizar para dirigir agentes citotóxicos a células que expresan un antígeno en particular. Estos anticuerpos poseen un brazo de unión al antígeno y un brazo que enlaza un agente citotóxico o un
- 15 quelante radionucleido, tal como EOTUBE, DTPA, DOTA, o TETA. Otro anticuerpo biespecífico de interés se une al antígeno de la proteína descrito en este documento y además se une al factor tisular (FT).

- Los anticuerpos heteroconjugados están también dentro del alcance de la presente invención. Los anticuerpos heteroconjugados se componen de dos anticuerpos
- 20 covalentemente unidos. Dichos anticuerpos han, por ejemplo, sido propuestos para dirigir a las células del sistema inmune a las células no deseadas (véase la patente de EE.UU. N° 4,676,980), y para el tratamiento de la infección por VIH (véase el documento WO91/00360, WO92/200373; EP03089). Se contempla que los anticuerpos pueden ser preparados *in vitro* utilizando métodos conocidos en la química de proteínas sintéticas,
- 25 incluida aquellas que involucran los agentes de entrecruzamiento. Por ejemplo, las inmunotoxinas se puede construir utilizando una reacción de intercambio de disulfuro o mediante la formación de un enlace tioéter. Ejemplos de los reactivos adecuados para este propósito incluyen iminotiolato y metil-4-mercaptobutirimidato y aquellos descritos, por ejemplo, en la patente de EE.UU. No. 4,676,980.

- 30 Puede ser conveniente modificar el anticuerpo de la invención con respecto a la función efectora, a fin de mejorar, *por ejemplo*, la eficacia de los anticuerpos en el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados con la señalización de IL-17F, IL-17A y/o del complejo IL-17A/IL-17F. Por ejemplo, el (los) residuo (s) de cisteína (s) se puede (n) introducir en la región Fc, lo que permite la formación de enlaces disulfuro entre cadenas
- 35 en esta región. El anticuerpo homodimérico así generado pueden tener la capacidad de internalización mejorada y/o el aumento de muerte celular mediada por el complemento y la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC, por sus siglas en inglés). (Véase Caron y otros, J. Exp Med, 176:1191-1195 (1992) y Shopes, J. Immunol, 148:2918- 2922 (1992)). Alternativamente, un anticuerpo puede ser modificado tal que
- 40 tiene regiones Fc duales y por lo tanto puede tener una potenciada lisis del complemento

y capacidades ADCC, por sus siglas en inglés. (Véase Stevenson y otros, Anti-Cancer Drug Design, 3: 219-230 (1989)).

La invención se refiere también a inmunokonjugados que comprenden un anticuerpo conjugado con un agente citotóxico, tal como una toxina (*por ejemplo*, una toxina
5 enzimáticamente activa de bacterias, hongos, plantas, o de origen animal, o sus fragmentos), o un isótopo radiactivo (*es decir*, un radioconjugado).

Las toxinas enzimáticamente activas y los fragmentos de las mismas que se pueden utilizar incluyen la cadena A de difteria, los fragmentos activos sin unión de la toxina diftérica, la cadena A de exotoxina (a partir de *Pseudomonas aeruginosa*), la cadena A de
10 ricina, una cadena A de abrina, cadena A de modeccina, sarcina alfa, proteínas Aleurites fordii, proteínas diantinas, proteínas de hierba carmín (*Phytolacca americana*) (PAPI, PAPII, y PAP-S), inhibidor de momordica charantia, curcina, cortina, inhibidor de sapaonaria officinalis, gelonina, mitogellina, restrictocina, fenomicina, enomicina, y los tricotecenos. Una variedad de radionucleidos están disponibles para la producción de
15 anticuerpos radioconjugados. Los ejemplos incluyen ^{212}Bi , ^{131}I , ^{131}In , ^{90}Y , y ^{186}Re .

Conjugados del anticuerpo y del agente citotóxico se hacen utilizando una variedad de agentes de acoplamiento de la proteína bifuncional, tales como propionato de N-succinimidilo-3-(2-piridilditiol) (SPDP, por sus siglas en inglés), iminotiolano (IT, por sus
20 siglas en inglés), derivados bifuncionales de imidoesteres (tales como dimetil adipimidato HCl), ésteres activos (como suberato de disuccinimidilo), aldehídos (como glutaraldehído), compuestos bis azido (como bis(p-azidobenzoil)hexanodiamina), derivados bis-diazonio (como bis (p-diazoniobenzoil)etilendiamina), diisocianatos (como toliene 2,6 diisocianato), y compuestos de flúor bis activos (como, 1,5 difluoro 2,4 dinitrobenceno). Por ejemplo,
25 una inmunotoxina ricina puede ser preparada como se describe en Vitetta y otros, Science 238:1098 (1987). El ácido 1-isotiocianatobencil-3-metildietilene triaminopentaacético (MX-DTPA, por sus siglas en inglés) marcado con carbono 14 es un agente quelante ejemplar para la conjugación de radionucleótidos al anticuerpo. (Véase WO94/11026).

Aquellos con conocimientos comunes en el arte reconocen que una gran variedad de fracciones posibles se pueden acoplar a los anticuerpos resultantes de la invención.
30 (*Véase, por ejemplo*, "Conjugate Vaccines", Contributions to Microbiology and Immunology, J. M. Cruse y R. E. Lewis, Jr. (eds.), Carger Press, Nueva York, (1989), el contenido en su totalidad el cual se incorpora en este documento mediante referencia).

El acoplamiento se puede lograr por cualquier reacción química que se unirá a dos moléculas, siempre y cuando el anticuerpo y la otra fracción mantengan sus respectivas
35 actividades. Este enlace puede incluir distintos mecanismos químicos, por ejemplo, enlace covalente, unión de afinidad, intercalación, enlace coordinado y complejos. El enlace preferido es, sin embargo, el enlace covalente. El enlace covalente puede lograrse ya sea por la condensación directa de las cadenas secundarias existentes o por la incorporación de moléculas externas que forman puentes. Muchos agentes del enlace bivalente o

polivalente son útiles en el acoplamiento de las moléculas de proteínas, tales como los anticuerpos de la presente invención, a otras moléculas. Por ejemplo, los agentes representativos de acoplamiento pueden incluir compuestos orgánicos, tales como tioésteres, carbodiimidas, ésteres succinimida, diisocianatos, glutaraldehído, diazobencenos y hexameten diaminas. Esta lista no pretende ser exhaustiva de las diversas clases de agentes de acoplamiento conocidos en el arte, sino, más bien, es un ejemplo de los agentes de acoplamiento más comunes. (Véase Killen and Lindstrom, Jour. Immun. 133:1335-2549 (1984); Jansen y otros, Immunological Reviews 62:185-216 (1982); and Vitetta y otros, Science 238:1098 (1987).

- Enlazadores preferidos son descritos en la literatura. (Véase, por ejemplo, Ramakrishnan, S. y otros, Cancer Res. 44:201-208 (1984) que describe el uso de MBS (éster M-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida). Véase también, la patente de EE.UU. N° 5,030,719, que describe el uso de derivados acetil hidrazida halogenados acoplados a un anticuerpo a través de un enlazador oligopéptido. Particularmente los enlazadores preferidos incluyen: (i) EDC clorhidrato de (1-etil-3-(3-dimetilamino-propil) carbodiimida, (ii) SMPT (4-succinimidiloxycarbonil-alfa-metil-alfa-(2-piridil-ditio)-tolueno (Pierce Chem. Co., Cat. (21558G); (iii) SPDP hexanoato de (succinimidil-6[3-(2-piridilditio) propionamido] (Pierce Chem. Co., Cat. # 21651G), (iv) sulfo-LC-SPDP hexanoato de (sulfosuccinimidil 6[3-(2-piridilditio)-propionamida] (Pierce Chem. Co. Cat. # 2165-G.), y (v) sulfo-NHS (N-hidroxisulfo-succinimida: Pierce Chem. Co., Cat. # 24510) conjugada con EDC.

Los enlazadores descritos anteriormente contienen componentes que tienen atributos diferentes, lo que conduce a conjugaciones con diferentes propiedades físico-químicas. Por ejemplo, los ésteres de sulfo-NHS o carboxilatos de alquilo son más estables que los ésteres de sulfo-NHS de carboxilatos aromáticos. Ésteres de NHS que contienen enlazadores son menos solubles que los ésteres de sulfo-NHS. Además, el enlazador SMPT contiene un enlace disulfuro impedido estéricamente, y puede formar conjugados con una mayor estabilidad. Los enlaces disulfuro, son en general, menos estables que otros enlaces, porque el enlace disulfuro se rompe *in vitro*, dando como resultado menos conjugados disponibles. Sulfo-NHS, en particular, puede mejorar la estabilidad de los acoplamientos de carbodimida. Los acoplamientos de carbodimida (como EDC) cuando se utilizan en conjunción con sulfo-NHS, forman ésteres que son más resistentes a la hidrólisis que la sola reacción de acoplamiento de carbodimida.

Los anticuerpos divulgados en este documento también pueden ser formulados como inmunoliposomas. Los liposomas que contienen el anticuerpo son preparados mediante métodos conocidos en el arte, tal como se describe en Epstein y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 82: 3688 (1985); Hwang y otros, Proc. Natl Acad. Sci. EE.UU., 77:4030 (1980), y Patente de EE.UU. N°. 4,485,045 y 4,544,545. Los liposomas con mayor tiempo de circulación se describen en la patente de EE.UU. N° 5,013,556.

Particularmente los liposomas útiles pueden ser generados por el método de evaporación de fase inversa con una composición de lípidos que comprende fosfatidilcolina, colesterol

y fosfatidiletanolamina derivatizada (PEG-PE, por sus siglas en inglés). Los liposomas son extrudidos a través de filtros de tamaño de poro definido para producir liposomas con el diámetro deseado. Fragmentos Fab' del anticuerpo de la presente invención pueden ser conjugados con los liposomas como se describe en Martin y otros., J. Biol. Chem., 257: 286-288 (1982) a través de una reacción de intercambio de disulfuro.

El uso de anticuerpos contra IL-17F, IL-17A y/o el complejo IL-17A/IL-17F

Se apreciará que la administración de entidades terapéuticas de acuerdo con la invención se administren con vehículos adecuados, excipientes y otros agentes que se incorporan en las formulaciones para proporcionar una mejor transferencia, entrega, tolerancia y similares. Una multitud de formulaciones adecuadas se pueden encontrar en el formulario conocido por todos los químicos farmacéuticos: Remington's Pharmaceutical Sciences (15ta ed., Mack Publishing Company, Easton, PA (1975)), particularmente en el Capítulo 87 por Blaug, Seymour. Estas formulaciones incluyen, por ejemplo, polvos, pastas, ungüentos, geles, ceras, aceites, lípidos, lípidos (catiónicos o aniónicos) que contienen vesículas (como Lipofectin™), conjugados de ADN, pastas anhidras de absorción, emulsiones de aceite en agua y agua en aceite, emulsiones de carbowax (polietilenglicoles de varios pesos moleculares), geles semi-sólidos, y mezclas semi-sólidas que contengan carbowax. Cualquiera de las mezclas anteriores pueden ser apropiadas en los tratamientos y terapias de conformidad con la presente invención, siempre que el ingrediente activo en la formulación no sea inactivado por la formulación y la formulación sea compatible fisiológicamente y tolerable con la vía de administración. Véase también Baldrick P. "Pharmaceutical excipient development: the need for preclinical guidance." Regul. Toxicol Pharmacol. 32 (2): 210-8 (2000), Wang W. "Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals." Int. J. Pharm. 203(1-2):1-60(2000), Charman WN "Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery-some emerging concepts." J Pharm Sci. 89 (8):967-78 (2000), Powell y otros. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA J Pharm Sci Technol. 52:238-311 (1998) y las citas en él para obtener información adicional acerca de las formulaciones, excipientes y vehículos bien conocidos por los químicos farmacéuticos.

En una modalidad, los anticuerpos de la invención, que incluyen un anticuerpo monoclonal de la invención (*por ejemplo*, un anticuerpo monoclonal totalmente humano), pueden utilizarse como agentes terapéuticos. Estos agentes generalmente se emplean para diagnosticar, pronosticar, controlar, tratar, aliviar y/o prevenir una enfermedad o patología asociada con la señalización de IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F en un sujeto. Un régimen terapéutico se lleva a cabo mediante la identificación de un sujeto, *por ejemplo*, un paciente humano que sufre de (o en riesgo de desarrollar) una enfermedad inflamatoria o trastorno, utilizando métodos estándar. Una preparación de anticuerpos, de preferencia una que tiene alta especificidad y alta afinidad por su antígeno objetivo, se administra al sujeto y, generalmente tendrá un efecto debido a su unión con el objetivo. La administración del anticuerpo puede anular o inhibir o interferir con la función de

señalización del objetivo (*por ejemplo*, IL-17F, IL-17A o el complejo IL-17A/IL-17F). La administración del anticuerpo puede anular o inhibir o interferir con la unión del objetivo (*por ejemplo*, IL-17F) con un ligando endógeno (*por ejemplo*, IL-17R o IL-17RC) al que se une naturalmente. Por ejemplo, el anticuerpo se une al objetivo y modula, bloquea, inhibe, reduce, antagoniza, neutraliza, o de otra manera interfiere con la producción de citoquinas pro-inflamatorias inducida por IL-17F, IL-17A y/o la IL-17A/IL-17F.

Enfermedades o trastornos relacionados con la señalización de IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F incluyen las enfermedades autoinmunes o enfermedades inflamatorias o trastornos, que incluyen, sin limitarse a la artritis reumatoidea, enfermedad de Crohn, psoriasis, esclerosis múltiple, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, y el asma. Por ejemplo, la expresión de IL-17A se ha encontrado para estar regulada en el tejido sinovial de pacientes con artritis reumatoide (véase Khono y otros, Mod. Rheumatol. 20 de diciembre 2007, publicación electrónica antes de la impresión). IL-17F resultó ser regulada en el esputo de pacientes con fibrosis quística (véase McAllister y otros, J. Immunol 175:404-412 (2005)), y en el colon de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (véase Seiderer y otros, Inflamm. Bowel Dis. 18 de diciembre 2007, publicación electrónica antes de la impresión). IL-17A/IL-17F ha demostrado jugar un papel en el captación de neutrofilia de las vías respiratorias, lo que sugiere un papel en la patogénesis de la enfermedad respiratoria (véase Liang y otros, J. Immunol 179 (11):7791-9 (2007)).

IL-17F y IL-17A también han demostrado incrementarse por la señalización de IL-21, lo que sugiere que los efectos pro-inflamatorios asociados con la señalización de IL-21 son mediados por IL-17F, la IL-17A y/o IL-17F/IL17A (Wei y otros, J Biol Chem. 282(48):34605-10 (2007)). Como tal, los anticuerpos de la invención son también útiles para el diagnóstico, pronóstico, seguimiento y/o tratamiento de enfermedades, trastornos mediados por la señalización de IL-21, incluyendo pero no limitados a enfermedades inflamatorias/autoinmunes como la enfermedad inflamatoria intestinal, artritis reumatoide, el rechazo de trasplantes, y la psoriasis.

Los síntomas asociados con trastornos inflamatorios relacionadas incluyen, por ejemplo, inflamación, fiebre, malestar general, fiebre, dolor, a menudo localizado en la zona inflamada, pulso rápido, dolor en las articulaciones o dolor (artralgia), respiración rápida u otros patrones de respiración anormal, escalofríos, confusión, desorientación, agitación, mareo, tos, disnea, infecciones pulmonares, insuficiencia cardíaca, insuficiencia respiratoria, edema, aumento de peso, recaídas mucopurulentas, caquexia, dolor de cabeza, sibilancias y síntomas abdominales, tales como, por ejemplo, dolor abdominal, diarrea, o estreñimiento. Los síntomas asociados a trastornos relacionados al sistema inmune, incluyen por ejemplo, inflamación, fiebre, pérdida de apetito, pérdida de peso, síntomas abdominales, tales como, por ejemplo, dolor abdominal, diarrea o estreñimiento, dolor en las articulaciones o dolor (artralgia), fatiga, erupción cutánea, anemia, sensibilidad extrema al frío (fenómeno de Raynaud), debilidad muscular, fatiga muscular,

cambios en el tono de la piel o tejido, falta de aire u otros patrones de respiración anormal, dolor en el tórax o la constricción de los músculos del tórax, ritmo cardíaco anormal (*por ejemplo*, elevado o bajo), sensibilidad a la luz, visión borrosa o de otra manera anormal, y función orgánica reducida.

5 Una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo de la invención se relaciona generalmente con la cantidad necesaria para alcanzar un objetivo terapéutico. Como se señaló anteriormente, esto puede ser una interacción de unión entre el anticuerpo y su antígeno objetivo, que en algunos casos, interfiere con el funcionamiento del objetivo. La cantidad necesaria para ser administrada, además, dependerá de la afinidad de unión del anticuerpo por su antígeno específico, y también dependerá de la velocidad a la que un anticuerpo administrado se agota a partir del volumen libre de otro sujeto al que se administra. Rangos comunes para dosis terapéuticamente eficaces de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de la invención pueden ser, a modo de ejemplo no limitativo, de aproximadamente 0,1 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal. Frecuencias de dosificación comunes pueden oscilar, por ejemplo, de dos veces al día a una vez por semana.

La eficacia del tratamiento se determina en relación con cualquier método conocido para diagnosticar o tratar el trastorno inflamatorio relacionado. El alivio de uno o más síntomas de la enfermedad inflamatoria relacionada indica que el anticuerpo confiere un beneficio clínico.

Métodos para el cribado de anticuerpos que poseen la especificidad deseada incluyen, pero no se limitan al, ensayo inmunosorbente ligado a enzimas (ELISA) y otras técnicas inmunológicamente mediadas conocidas en el arte.

En otra modalidad, los anticuerpos dirigidos contra la IL-17F, IL-17A y/o el complejo IL-17F/IL17A se puede utilizar en métodos conocidos en el arte relacionados con la localización y/o cuantificación de IL-17F, IL-17A o el complejo IL-17A/IL-17F (*por ejemplo*, para el uso en la medición de los niveles de IL-17F, IL-17A, y/o el complejo IL-17A/IL-17F en muestras fisiológicas apropiadas, para el uso en métodos de diagnóstico, para uso en la proyección de imagen de la proteína, y similares). En una modalidad dada, los anticuerpos específicos para IL-17F, IL-17A y/o el complejo IL-17A/IL-17F, o derivados, fragmento, análogo u homólogo de las mismas, que contienen el anticuerpo derivado del dominio de unión al antígeno, se utilizan como compuestos farmacológicamente activos (en lo sucesivo como "terapéuticos").

En otra modalidad, un anticuerpo específico para IL-17F, IL-17A y/o el complejo IL-17A/IL-17F se puede utilizar para aislar un polipéptido IL-17A o IL-17F, o el polipéptido IL-17A/IL-17F mediante técnicas estándar, tal como inunoafinidad, cromatografía o inmunoprecipitación. Los anticuerpos dirigidos contra IL-17F, IL-17A y/o la proteína IL-17A/IL-17F (o un fragmento de la misma) se puede utilizar diagnósticamente para monitorear los niveles de proteína en el tejido como parte de un procedimiento de análisis

63

clínicos, *por ejemplo*, para, *por ejemplo*, determinar la eficacia de un régimen de tratamiento dado. La detección puede facilitarse por acoplamiento (*es decir*, enlazar físicamente) el anticuerpo a una sustancia detectable. Ejemplos de sustancias detectables incluyen varias enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes y materiales radiactivos. Ejemplos de enzimas adecuadas incluyen peroxidasa de rábano, fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, o acetilcolinesterasa; ejemplos de complejos de grupos prostéticos adecuados incluyen estreptavidina/biotina y avidina/biotina; ejemplos de materiales fluorescentes adecuados incluyen fluoresceína, umbeliferona, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, fluoresceína diclorotriazinilamina, cloruro de dansilo o ficoeritrina, un ejemplo de un material luminiscente incluye luminol, ejemplos de materiales bioluminiscentes incluyen luciferasa, luciferina y aequorina, y ejemplos de materiales radiactivos adecuados incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S o ^3H .

En otra modalidad, un anticuerpo de acuerdo con la invención puede ser utilizado como un agente para detectar la presencia de IL-17A/IL-17F y/o la proteína IL-17A/IL-17F (o un fragmento de la proteína del mismo) en un muestra. En algunas modalidades, el anticuerpo contiene un marcador detectable. Los anticuerpos son policlonales, o más preferentemente, monoclonales. Un anticuerpo intacto, o un fragmento del mismo (*por ejemplo*, se utiliza F_{ab} , scFv, o $\text{F}_{(\text{ab})2}$). El término "marcado", con relación a la sonda o anticuerpo, pretende abarcar el marcado directo de la sonda o el anticuerpo de acoplamiento (*es decir*, enlazar físicamente) una sustancia detectable a la sonda o el anticuerpo, así como el marcado indirecto de la sonda o el anticuerpo mediante reactividad con otro reactivo que está directamente marcado. Ejemplos de marcado indirecto incluyen la detección de un anticuerpo primario que utiliza un anticuerpo secundario marcado con fluorescencia y el marcado final de una sonda de ADN con biotina de tal manera que se pueda detectar con estreptavidina marcado con fluorescencia. El término "muestra biológica" pretende incluir los tejidos, células y fluidos biológicos aislados de un sujeto, así como los tejidos, células y fluidos presentes en un sujeto. Incluido en el uso del término "muestra biológica", por lo tanto, está la sangre y una fracción o componente de la sangre como el suero sanguíneo, plasma sanguíneo o linfático. Es decir, el método de detección de la invención se puede utilizar para detectar un ARNm analito, proteínas o ADN genómico de una muestra biológica *in vitro* como *in vivo*. Por ejemplo, las técnicas *in vitro* para la detección de un ARNm analito incluyen hibridaciones tipo Northern e hibridaciones *in situ*. Las técnicas *in vitro* para la detección de una proteína analito incluyen ensayo inmunsorbente ligado a enzimas (ELISA), Western blot, inmunoprecipitaciones, e inmunofluorescencia. Las técnicas *in vitro* para la detección de un ADN genómico analito incluyen hibridaciones tipo Southern. Los procedimientos para la modalidad de inmunoensayos se describen, por ejemplo, en "ELISA: Theory and Practice: Methods in Molecular Biology", vol. 42, J.R. Crowther (Ed.) human Press, Totowa, Nueva Jersey, 1995; "Immunoassay", E. Diamandis and T. Christopoulos, Academic Press, Inc., San Diego, CA, 1996, and "Practice and Theory of

Enzyme Immunoassay", P. Tijssen, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1985. Además, las técnicas *in vivo* para la detección de una proteína analito incluyen la introducción en un sujeto de un anticuerpo anti proteína analito marcado. Por ejemplo, el anticuerpo se puede marcar con un marcador radiactivo, cuya presencia y ubicación en un sujeto puede detectarse por técnicas de imagen estándar.

Administración y formulaciones terapéuticas de anticuerpos huLL-17A/F

Los anticuerpos de la invención (también conocidos en este documento como "sustancias activas"), y derivados, fragmentos, análogos, y homólogos de los mismos, se pueden incorporar en las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración.

Principios y consideraciones implicadas en la preparación de tales composiciones, así como directrices en la elección de los componentes se proporcionan, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences: The Science And Practice of Pharmacy 19na ed. (Alfonso R. Gennaro, y otros, Editores) Mack Pub. Co., Easton, Pa:1995; Drug Absorption Enhancement: Concepts, Possibilities, Limitations, And Trends, Harwood Academic Publishers, Langhorne, Pa. 1994, y Peptide And protein Drug Delivery (Advances In Parenteral Sciences, Vol. 4), 1991, M. Dekker, Nueva York.

Estas composiciones abarcan típicamente el anticuerpo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Donde se utilizan los fragmentos de anticuerpos, se prefiere el más pequeño fragmento inhibitorio que se une específicamente al dominio de unión de la proteína objetivo. Por ejemplo, las moléculas de péptido pueden diseñarse en base a las secuencias de la región variable de un anticuerpo, de forma que conservan la capacidad de unirse a la secuencia de la proteína objetivo. Estos péptidos pueden sintetizarse químicamente y/o producirse mediante la tecnología del ADN recombinante. (Véase, *por ejemplo*, Marasco y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 90:7889-7893 (1993)).

Tal como se utiliza en este documento, el término "vehículo farmacéuticamente aceptable" pretende incluir todas y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción, y similares, compatibles con la administración farmacéutica. Los vehículos adecuados se describen en la edición más reciente de Remington's Pharmaceutical Sciences, un texto de referencia estándar en el campo, que se incorpora al presente documento mediante referencia. Los ejemplos preferidos de estos vehículos o diluyentes incluyen, pero no se limitan a, el agua, solución salina, solución de Ringer, solución de dextrosa, y albúmina de suero humano al 5%.

Los liposomas y vehículos no acuosos tales como aceites fijos también se puede utilizar. El uso de dichos medios y agentes para las sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en el arte. Salvo en la medida en que cualquier medio o agente convencional es incompatible con el compuesto activo, se contempla su uso en las composiciones.

Las fórmulas a utilizarse para la administración *in vivo* deben ser estériles. Esto se logra fácilmente por filtración a través de membranas de filtración estéril.

65

Una composición farmacéutica de la invención se formula para ser compatible con su vía de administración. Ejemplos de vías de administración incluyen, la parenteral, por ejemplo, intravenosa, intradérmica, subcutánea, oral (*por ejemplo*, la inhalación), transdérmica (*es decir*, tópica), transmucosa, y la administración rectal. Las soluciones o suspensiones utilizadas para la aplicación parenteral, intradérmica o subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril como el agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros solventes sintéticos, agentes antibacterianos como alcohol bencílico o metil parabenos, antioxidantes como el ácido ascórbico o bisulfito de sodio, agentes quelantes tales como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos, y agentes para el ajuste de la tonicidad, tales como cloruro de sodio o dextrosa. El pH se puede ajustar con ácidos o bases, como el ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral se puede incluir en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples de vidrio o de plástico.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para el uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (cuando es soluble en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones inyectables estériles o dispersión. Para la administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen suero fisiológico, agua bacteriostática, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) o solución salina tamponada con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser líquida en la medida en que exista fácil capacidad de administración con una jeringa. Debe ser estable bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento, y debe conservarse en contra de la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un solvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, polioles (por ejemplo, el glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido, y similares), y las mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de una capa como la lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de los microorganismos se puede alcanzar por varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico timerosal, y similares. En muchos casos, será preferible incluir en las composiciones agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes, tales como manitol, sorbitol, cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectable puede llevarse a cabo mediante la inclusión en la composición de un agente que retrasa la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles pueden ser preparadas mediante la incorporación del compuesto activo en la cantidad requerida en un solvente apropiado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido por la esterilización por filtrado. Generalmente, las dispersiones se preparan mediante la incorporación del compuesto activa en un vehículo estéril que contiene un

medio de dispersión básico y otros ingredientes necesarios de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación son el secado al vacío y secado por congelación que produce un polvo del ingrediente activo, más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una solución previamente filtrada estéril de la misma.

Las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un vehículo comestible. Pueden ser incluidos en cápsulas de gelatina o comprimidos en forma de tabletas. A los efectos de la administración terapéutica oral, el compuesto activo se puede incorporar con excipientes y se utiliza en forma de tabletas, comprimidos o cápsulas. Las

composiciones orales también se pueden preparar utilizando un vehículo líquido para su uso como un enjuague bucal, en donde el compuesto en el vehículo líquido se aplica por vía oral y se agita y se expectora o se ingiere. Los aglutinantes de unión farmacéuticamente compatibles, y/o los materiales adyuvantes pueden incluirse como parte de la composición. Las tabletas, píldoras, cápsulas, comprimidos y similares pueden

contener cualquiera de los siguientes ingredientes o compuestos de una naturaleza similar: un aglutinante tal como la celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina, un excipiente tal como el almidón o lactosa, un agente de desintegración tal como el ácido algínico, Primogel, o almidón de maíz, un lubricante tal como el estearato de magnesio o esterotes, un deslizante, como el dióxido de silicio coloidal, un agente edulcorante como la sacarosa o sacarina, o un agente saborizante como la menta, el salicilato de metilo, o saborizante de naranja .

Para la administración por inhalación, los compuestos se entregan en forma de un atomizador de aerosol de un contenedor a presión o dispensador que contiene un propelente adecuado, por ejemplo, un gas como el dióxido de carbono, o un nebulizador.

La administración sistémica también puede ser por medios transdérmicos o transmucosos. Para la administración transmucosa o transdérmica, penetrantes adecuados a la barrera a ser permeada se utilizan en la formulación. Dichos penetrantes son generalmente conocidas en el arte, e incluyen, por ejemplo, para la administración transmucosa, detergentes, sales biliares, y los derivados del ácido fusídico. La administración transmucosa se puede lograr mediante el uso de aerosoles nasales "sprays" o supositorios. Para la administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en pomadas, ungüentos, geles, o cremas como generalmente se conoce en el arte.

Los compuestos también pueden ser preparados en forma de supositorios (*por ejemplo*, con bases de supositorios convencionales, tales como manteca de cacao y otros glicéridos) o enemas de retención para la liberación rectal.

En una modalidad, los compuestos activos se preparan con vehículos que protejan el compuesto contra la rápida eliminación del cuerpo, tal como formulaciones con una liberación sostenida o controlada, incluyendo los implantes y sistemas de liberación

62

microencapsulados. Los polímeros biodegradables, biocompatibles se puede utilizar, tales como etileno, acetato de vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de dichas formulaciones serán evidentes para los expertos en el arte.

- 5 Por ejemplo, los ingredientes activos pueden ser atrapados en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o mediante polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de gelatina o hidroximetilcelulosa y microcápsulas de polimetacrilato de metilo, respectivamente, en los sistemas coloidales de liberación de medicamentos (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones.

- Se pueden preparar formulaciones de liberación sostenida. Ejemplos adecuados de las preparaciones de liberación sostenida incluyen las matrices semipermeables de polímeros sólidos hidrofóbicos que contienen el anticuerpo, cuyas matrices están en la forma de artículos de forma de, por ejemplo, películas o microcápsulas. Ejemplos de matrices de liberación sostenida son los poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli (2- hidroxietil- metacrilato), o el alcohol polivinílico, polilactidas (Pat. De los EE.UU. N° 3,773,919), los copolímeros de ácido L-glutámico y γ -etil-L-glutamato, etileno-acetato de vinilo no degradable, copolímeros de ácido glicólico y ácido láctico degradables como el LUPRON DEPOT™ (microesferas inyectables compuestas de copolímero de ácido láctico y ácido glicólico y acetato de leuprolide), y el ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico. Mientras que los polímeros tales como etileno acetato de vinilo y ácido láctico y ácido glicólico permiten la liberación de moléculas de más de 100 días, ciertos hidrogeles liberan proteínas por periodos de tiempo más corto.

- Los materiales también se pueden obtener comercialmente a partir de Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. Las suspensión liposómicas (incluidos los liposomas dirigidos a las células infectadas con anticuerpos monoclonales para antígenos virales) y también se pueden utilizar como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos pueden ser preparados de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en el arte, por ejemplo, como se describe en la patente de EE.UU. N° 4,522,811.

- Es especialmente ventajoso formular composiciones oral o parenteral en forma de dosis unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosis. La forma de dosificación unitaria, como se usa en este documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis única para el sujeto a ser tratado, cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico necesario. La especificación de las formas de dosificación unitaria de la invención son dictadas por y dependen directamente de las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular a alcanzar, y las limitaciones inherentes al arte de la preparación de composiciones como un compuesto activo para el tratamiento de individuos.

Las composiciones farmacéuticas pueden incluirse en un contenedor o envase, empaque o dispensador junto con las instrucciones para su administración.

La formulación también puede contener más de un compuesto activo que sea necesario para la indicación particular que se trata, preferentemente aquellos con actividades complementarias que no afecten negativamente a los demás. Alternativamente, o además, la composición puede comprender un agente que mejora su función, como, por ejemplo, un agente citotóxico, citoquina, agente quimioterapéutico, o un agente inhibidor del crecimiento. Dichas moléculas están de forma adecuada presentes en la combinación, en cantidades que son eficaces para el fin previsto.

- 10 En una modalidad, los compuestos activos son administrados en terapia de combinación, *es decir*, en combinación con otros agentes, *por ejemplo*, agentes terapéuticos, que son útiles para el tratamiento de trastornos o condiciones patologías, como los trastornos autoinmunes y enfermedades inflamatorias. El término "en combinación" en este contexto significa que los agentes se dan al mismo tiempo sustancialmente, de forma simultánea o
- 15 secuencial. Si se administra de forma secuencial, en el inicio de la administración del segundo compuesto, el primero de los dos compuestos es de preferencia aún así detectable en concentraciones eficaces en el sitio de tratamiento.

Por ejemplo, la terapia de combinación puede incluir uno o más anticuerpos de la invención coformulado con, y/o coadministrado con uno o más agentes terapéuticos adicionales, *por ejemplo*, una o más citoquinas e inhibidores del factor de crecimiento, inmunosupresores, agentes anti-inflamatorios, inhibidores metabólicos, inhibidores de la enzima, y/o agentes citotóxicos o citostáticos, como se describe con más detalle a continuación. Por otra parte, uno o más anticuerpos descritos en este documento pueden utilizarse en combinación con dos o más de los agentes terapéuticos descritos en este

20 documento. Tales terapias de combinación puede ventajosamente utilizar dosis más bajas de los agentes terapéuticos administrados, evitando así posibles toxicidades o complicaciones asociadas a las monoterapias diferentes.

Los agentes terapéuticos preferidos utilizados en combinación con un anticuerpo de la invención son los agentes que intervienen en diferentes etapas de una respuesta inflamatoria. En una modalidad, una o más anticuerpos descritos en este documento pueden ser coformulado con, y/o coadministrados con uno o más agentes adicionales, como otras citoquinas o antagonistas del factor de crecimiento (*por ejemplo*, los receptores solubles, los inhibidores de péptidos, moléculas pequeñas, fusiones del ligando); o anticuerpos o antígenos que se unen a fragmentos de los mismos que se unen a otros objetivos (*por ejemplo*, los anticuerpos que se unen a otras citoquinas o factores de crecimiento, sus receptores, u otras moléculas de la superficie celular), y citoquinas antiinflamatorias o agonistas de las mismas. Ejemplos no limitantes de los agentes que se pueden utilizar en combinación con los anticuerpos descritos en este documento, incluyen, pero no se limitan a, antagonistas de una o más interleuquinas (ILS) o sus

30 receptores, *por ejemplo*, los antagonistas de la IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-13, IL-

35

40

15, IL-16, IL-18, IL-21 e IL-22, antagonistas de citoquinas o factores de crecimiento o sus receptores, como el factor de necrosis tumoral (TNF, por sus siglas en inglés), LT, EMAP-II, GM-CSF, FGF y PDGF. Los anticuerpos de la invención también puede ser combinados con inhibidores de, *por ejemplo*, anticuerpos para, moléculas de la superficie celular, tales como CD2, CD3, CD4, CD8, CD20 (*por ejemplo*, el inhibidor de CD20 rituximab (RITUXAN®)), CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD80 (B7.1), CD86 (B7.2), CD90, o sus ligandos, incluyendo CD154 (gp39 o CD4OL), o LFA-1/ICAM-1 y VLA-4/VCAM-1 (Yusuf-Makagiansar y otros (2002) *Med. Res. Rev.* 22:146-67). Los antagonistas preferidos que se puede utilizar en combinación con los anticuerpos descritos en este documento incluyen los antagonistas de IL-1, IL-12, TNF α , IL-15, IL-18 e IL-22.

Ejemplos de estos agentes incluyen los antagonistas de la IL-12, como anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados *in vitro* (o fragmentos de unión al antígeno de los mismos) que se unen a la IL-12 (de preferencia la IL-12 humana), *por ejemplo*, el anticuerpo descrito en WO 00/56772, inhibidores del receptor IL-12, *por ejemplo*, anticuerpos contra los receptores de IL-12 humana, y fragmentos solubles del receptor de IL-12, *por ejemplo*, del receptor de IL-12 humana. Ejemplos de antagonistas de IL-15 incluyen los anticuerpos (o fragmentos de unión al antígeno del mismo) contra la IL-15 o su receptor, *por ejemplo*, los anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados *in vitro* para la IL-15 humana o su receptor, los fragmentos solubles del receptor de IL -15 y las proteínas de unión de IL-15. Ejemplos de antagonistas de IL-18 incluyen los anticuerpos, *por ejemplo*, los anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados *in vitro* (o fragmentos de unión al antígeno del mismo), para la IL-18 humana, los fragmentos solubles del receptor de IL-18 y las proteínas de unión de IL-18 (IL-18BP). Ejemplos de antagonistas de IL-1 incluyen los inhibidores de la enzima convertidora de interleucina-1 (ICE), tales como Vx740, antagonistas de la IL-1, *por ejemplo*, la IL-1RA (anikinra, KINERET™, Amgen), sIL1RII (Immunex), y anticuerpos del receptor anti-IL-1 (o fragmentos de unión al antígeno del mismo).

Ejemplos de antagonistas del TNF incluyen anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados *in vitro* (o fragmentos de unión al antígeno del mismo) para TNF (TNF, *por ejemplo*, TNF α humano), como (HUMIRA™, D2E7, anticuerpos TNF α humano), CDP-571/CDP-870/BAY-10-3356 (anticuerpo humanizado anti-TNF α ; Celltech/Farmacia), cA2 (anticuerpo quimérico anti-TNF α ; REMICADE®, Centocor); fragmentos del anticuerpo anti-TNF (*por ejemplo*, CPD870); fragmentos solubles de los receptores de TNF, *por ejemplo*, receptores de TNF humanos p55 y p75 o sus derivados, *por ejemplo*, 75 kDTNFR-IgG (75 kD proteína de fusión de la IgG - receptor de TNF, ENBREX™; Immunex), p55 kDTNFR-IgG (55 kD proteína de fusión de la IgG - receptor de TNF (LENERCEPT®)), antagonistas de la enzima, *por ejemplo*, inhibidores de la enzima convertidora de TNF α (TACE) (*por ejemplo*, un derivado del ácido alfa-sulfonilhidroxámico, y el inhibidor de N-hydroxyformamide TACE GW 3333, -005, o -022); y

TNF-bp/s- TNFR (proteínas solubles de unión de TNF). Antagonistas del TNF preferidos son los fragmentos solubles de los receptores de TNF, por ejemplo, receptores de TNF humanos p55 o p75 o sus derivados, *por ejemplo*, 75 kdTNFR-IgG, y los inhibidores de la enzima convertidora de TNF α (TACE).

- 5 En otras modalidades, los anticuerpos descritos en este documento se puede administrar en combinación con uno o más de los siguientes: antagonistas de la IL-13, *por ejemplo*, los receptores soluble de IL-13 (sIL-13) y/o anticuerpos contra IL-13, los antagonistas de IL-2, *por ejemplo*, DAB 486-IL-2 y/o DAB 389-IL-2 (las proteínas de fusión IL-2, Seragen), y/o los anticuerpos para IL-2R, *por ejemplo*, anti-Tac (humanizado anti-IL-2R , Protein Design Labs). Sin embargo, otra combinación incluye anticuerpos de la invención, moléculas pequeñas antagónicas, y/o anticuerpos inhibidores en combinación sin reducción de inhibidores anti-CD4 (DEC-CE9.1/SB 210.396; nondepleting primatized anti-CD4 antibody; IDEC / SmithKline). Sin embargo, otras combinaciones preferidas incluyen los antagonistas de la vía de coestimulación CD80 (B7.1) o CD86 (B7.2), incluyendo los anticuerpos, los receptores solubles o ligandos antagonistas, así como ligando de la glicoproteína P-selectin (PSGL, por sus siglas en inglés), citocinas antiinflamatorias, *por ejemplo*, la IL-4 (DNAX/Schering), IL-10 (SCH 52000; IL-10 DNAX recombinante/Schering), IL-13 y TGF- β , y los agonistas de los mismos (*por ejemplo*, los anticuerpos agonistas).
- 10
- 15
- 20 En otras modalidades, uno o más anticuerpos de la invención puede ser coformulados con, y/o coadministrados con uno o más medicamentos anti-inflamatorios, inmunosupresores, o inhibidores enzimáticos o metabólicos. Los ejemplos no limitantes de los medicamentos o inhibidores que se puede utilizar en combinación con los anticuerpos descritos en este documento, incluyen, pero no se limitan a uno o más de:
- 25 medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), *por ejemplo*, ibuprofeno, tenidap, naproxeno, meloxicam, piroxicam, diclofenaco e indometacina, sulfasalazina, corticosteroides tales como prednisolona; medicamentos anti-inflamatorios supresores de citoquinas (CSAIDs, por sus siglas en inglés), inhibidores de la biosíntesis de nucleótidos, *por ejemplo*, los inhibidores de la biosíntesis de purina, antagonistas de folato (*por ejemplo*, metotrexato ácido (N-[4 -[[[2,4-diamino-6-pteridinil]metil]]metilamino benzoil]-L-glutámico) y los inhibidores de la biosíntesis de pirimidina, *por ejemplo*, inhibidores de dihidroorotato deshidrogenasa (DHODH). Agentes terapéuticos preferidos para el uso en combinación con los anticuerpos de la invención incluyen los AINEs, CSAIDs, inhibidores de (DHODH) (*por ejemplo*, leflunomida), y los antagonistas de folato (*por ejemplo*, metotrexato).
- 30
- 35

Ejemplos de los inhibidores adicionales incluyen uno o más de: corticosteroides (orales, inhalados y de inyección local); inmunosupresores, *por ejemplo*, ciclosporina, tacrolimus (FK-506) y los inhibidores de mTOR, *por ejemplo*, sirolimus (rapamicina RAPAMUNE™ - o Derivados de rapamicina, *por ejemplo*, derivados solubles de rapamicina (*por ejemplo*, los derivados éster de rapamicina, *por ejemplo*, CCI-779); agentes que interfieren con la

21

señalización por citocinas proinflamatorias como TNF α o IL-1 (*por ejemplo*, IRAK, NIK, IKK, o inhibidores de MAP quinasa o p38), inhibidores de COX2, *por ejemplo*, celecoxib, rofecoxib, y sus variantes, inhibidores de la fosfodiesterasa, *por ejemplo*, R973401 (inhibidor de la fosfodiesterasa tipo IV), inhibidores de la fosfolipasa, *por ejemplo*, los inhibidores de la fosfolipasa citosólica 2 (cPLA2, por sus siglas en inglés) (*por ejemplo*, los análogos de trifluorometil cetona), los inhibidores del factor de crecimiento vascular endotelial o receptor del factor de crecimiento, *por ejemplo*, inhibidores de VEGF y/o un inhibidor de VEGF-R; y los inhibidores de la angiogénesis. Los agentes terapéuticos preferidos para el uso en combinación con los anticuerpos de la invención son

5 inhibidores de la fosfolipasa citosólica 2 (cPLA2, por sus siglas en inglés) (*por ejemplo*, los análogos de trifluorometil cetona), los inhibidores del factor de crecimiento vascular endotelial o receptor del factor de crecimiento, *por ejemplo*, inhibidores de VEGF y/o un inhibidor de VEGF-R; y los inhibidores de la angiogénesis. Los agentes terapéuticos preferidos para el uso en combinación con los anticuerpos de la invención son

10 inmunosupresores, *por ejemplo*, ciclosporina, tacrolimus (FK-506); inhibidores de mTOR, *por ejemplo*, sirolimus (rapamicina) o derivados de rapamicina, *por ejemplo*, los derivados de rapamicina solubles (*por ejemplo*, los derivados éster de rapamicina, *por ejemplo*, CCI-779), inhibidores de la COX2, *por ejemplo*, celecoxib y sus variantes, y los inhibidores de la fosfolipasa, *por ejemplo*, los inhibidores de fosfolipasa citosólica 2 (cPLA2, por sus siglas en inglés), *por ejemplo*, los análogos de trifluorometil cetona.

15

Ejemplos adicionales de agentes terapéuticos que se pueden combinar con un anticuerpo de la invención incluyen una o más de: 6-mercaptopurinas (6-MP), sulfasalazina, azatioprina, mesalazina, olsalazina, cloroquina/hidroxiclороquina (PLAQUENIL[®]); pencilamina; aurotiornalato (intramuscular y oral), azatioprina, coichicina, agonistas de los

20 receptores adrenérgicos beta-2 (salbutamol, terbutalina, salmeteral), xantinas (teofilina, aminofilina), cromoglicato, nedocromil, ketotifeno, ipratropio y oxitropio, micofenolato de mofetilo, agonistas de la adenosina, agentes antitrombóticos, inhibidores del complemento; y agentes adrenérgicos.

Ejemplos no limitativos de agentes para el tratamiento o prevención de los trastornos

25 artríticos (*por ejemplo*, la artritis reumatoide, la artritis inflamatoria, la artritis reumatoide, la artritis reumatoide juvenil, osteoartritis y la artritis psoriásica), con la que puede un anticuerpo de la invención se puede combinar incluyen uno o más de los siguientes: antagonistas de IL-12 como se describe en este documento; AINEs; CSAIDs; TNFs, *por ejemplo*, TNF α , antagonistas como se describen en este documento; sin resucción de anticuerpos anti-CD4 como se describe en este documento; antagonistas de IL-2 como se describe en este documento; citoquinas antiinflamatorias, *por ejemplo*, IL-4, IL-10, IL-13 y TGF α , o agonistas de los mismos; IL-1 o antagonistas de receptores de IL-1, como se describe en este documento; inhibidores de la fosfodiesterasa como se describe en este documento, inhibidores de la Cox-2 como se describe en este documento; iloprost:

30 metotrexato, talidomida y fármacos relacionados con talidomida (*por ejemplo*, Celgen); leflunomida, inhibidor de la activación del plasminógeno, *por ejemplo*, el ácido tranexámico, inhibidor de las citoquinas, *por ejemplo*, T-61, prostaglandina E1, azatioprina, un inhibidor de la enzima convertidora de la interleuquina-1 (ICE, por sus siglas en inglés), ZAP-70 y/o un inhibidor de lck (inhibidor de la tirosina quinasa ZAP-70 o

35 lck), un inhibidor del factor de crecimiento endotelial vascular o del receptor del factor de

40

72

crecimiento endotelial celular como se describe en este documento, un inhibidor de la angiogénesis como se describe en este documento, los fármacos anti-inflamatorios corticosteroides (*por ejemplo*, SB203580), inhibidores de la convertasa de TNF, inhibidores de IL-11, IL-13, IL-17; oro, penicilamina, cloroquina, hidroxicloroquina, clorambucilo, ciclofosfamida, ciclosporina, la irradiación linfóide total, globulina antitumoral, toxinas CD5, péptidos administrado por vía oral y colágeno; lornoxicam; agentes de regulación de las citoquinas (CRAs, por sus siglas en inglés) HP228 y HP466 (Houghten Pharmaceuticals, Inc.), ICAM-1 oligodesoxinucleótidos de fosforotioato antisentido (ISIS 2302; Isis Pharmaceuticals, Inc.); receptor 1 soluble del complemento (TP10, T Cell Sciences, Inc.), prednisona; orgoteína; polisulfato glicosaminoglicano, minociclina (MINOCIN®), anticuerpos anti-IL2R; lípidos marinos y botánicos (ácidos grasos de semillas de plantas y pescado); auranofin, fenilbutazona, ácido meclofenámico, ácido flufenámico, inmunoglobulina intravenosa; zileuton, ácido micofenólico (RS-61443), tacrolimus (FK-506), sirolimus (rapamicina); amiprilose (therafectina); cladribina (2-clorodeoxiadenosina), y azaribina. Las combinaciones preferidas incluyen uno o más anticuerpos de la invención en combinación con metotrexato o leflunomida, y en casos de artritis reumatoide moderada o grave, la ciclosporina.

Los ejemplos preferidos de los inhibidores para su uso en combinación con los anticuerpos de la invención para el tratamiento de los trastornos artríticos incluyen antagonistas de TNF (*por ejemplo*, los anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados *in vitro*, o fragmentos de unión al antígeno del mismo, que se unen al TNF; fragmentos solubles de un receptor de TNF, *por ejemplo*, del receptor de TNF humano p55 o p75 o sus derivados, *por ejemplo*, 75 kDTNFR-IgG (75 kD proteína de fusión de la IgG - receptor de TNF, ENBREL™), p55 kD proteína de fusión de la IgG - receptor de TNF, los antagonistas de la enzima de TNF, *por ejemplo*, inhibidores de la enzima convertidora de TNFα (TACE)), antagonistas de la IL-12, IL-15, IL-18, IL-22, inhibidores de moléculas pequeñas, de células T y agentes que agotan las células B (*por ejemplo*, anticuerpos anti-CD4 o anti-CD22), *por ejemplo*, metotrexato y leflunomida, sirolimus (rapamicina) y sus análogos, *por ejemplo*, ICC-779, inhibidores de la Cox-2 y cPLA2, AINEs, inhibidores de p38, inhibidores de NFκB, TPL-2, y Mk-2, RAGE o RAGE soluble; inhibidores de P-selectina o PSGL-1 (*por ejemplo*, inhibidores de moléculas pequeñas, los mismos anticuerpos, *por ejemplo*, los anticuerpos para P-selectina), agonistas del receptor beta de estrógeno (ERB, por sus siglas en inglés) o antagonistas de ERB-NFκB. Agentes terapéuticos adicionales más preferidos que pueden ser coadministrados y/o coformulados con uno o más anticuerpos de la invención incluyen uno o más de: un fragmento soluble de un receptor de TNF, *por ejemplo*, del receptor de TNF humano p55 o p75 o sus derivados, *por ejemplo*, el 75 kDTNFR-IgG (75 kD proteína de fusión de la IgG del receptor de TNF, ENBREL™); leflunomida, metotrexato, o sirolimus (rapamicina) o un análogo del mismo, *por ejemplo*, CCI-779.

72

Ejemplos no limitativos de los agentes para tratar o prevenir la esclerosis múltiple con el que los anticuerpos de la invención pueden ser combinados incluyen los siguientes: los interferones, *por ejemplo*, interferón-alfa1a (*por ejemplo*, AVONEX™; Biogen) y el interferón-1b (BETASERON™ Chiro /Berlex); Copolímero 1 (Cop-1; COPAXONE™ Teva
5 Pharmaceutical Industries, Inc.), oxígeno hiperbárico, inmunoglobulina intravenosa, cladribina, antagonistas del TNF como se describe en este documento; corticoides; prednisolona, metilprednisolona, azatioprina, ciclofosfamida, ciclosporina, ciclosporina A, metotrexato, 4 - aminopiridina; y tizanidina. Los antagonistas adicionales que se puede utilizar en combinación con los anticuerpos de la invención incluyen los anticuerpos para
10 los antagonistas de otras citoquinas humanas o factores de crecimiento, *por ejemplo*, el TNF, LT, IL-1, IL-2, IL-6, EL-7, IL -8, IL-12, IL-15, IL-16, IL-18, EMAP-11, GM-CSF, FGF y PDGF. Los anticuerpos como se describe en este documento se puede combinar con anticuerpos para las moléculas de la superficie celular, tales como CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD80, CD86, CD90 o sus ligandos. Los
15 anticuerpos de la invención también se pueden combinar con agentes, como metotrexato, ciclosporina, FK506, rapamicina, micofenolato de mofetilo, leflunomida, AINEs, *por ejemplo*, ibuprofeno, corticosteroides como prednisolona, inhibidores de la fosfodiesterasa, agonistas de la adenosina, agentes antitrombóticos, inhibidores del complemento, agentes adrenérgicos, agentes que interfieren con la señalización por
20 citoquinas proinflamatorias como se describe en este documento, inhibidores de la enzima convertidora de IL-1b (*por ejemplo*, Vx740), anti-P7S, PSGL, los inhibidores de TACE, inhibidores de la señalización de células T, como los inhibidores de quinasa, inhibidores de las metaloproteinasas, sulfasalazina, azatioprine, 6-mercaptopurinas, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, receptores solubles de citoquinas y sus
25 derivados, como se describe en este documento, y las citoquinas antiinflamatorias (*por ejemplo*, IL-4, IL-10, IL-13 y TGF).

Los ejemplos preferidos de los agentes terapéuticos para la esclerosis múltiple con la que los anticuerpos de la invención pueden ser combinados incluyen el interferón-β, *por ejemplo*, IFNβ-1a e IFNβ-1a; copaxone, corticoides, inhibidores de IL-1, inhibidores de
30 TNF, anticuerpos para el ligando CD40 y CD80, antagonistas de IL-12.

Ejemplos no limitativos de agentes para el tratamiento o prevención de la enfermedad inflamatoria intestinal (*por ejemplo*, la enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa) con el que un anticuerpo de la invención se puede combinar incluye los siguientes: budesonida, factor de crecimiento epidérmico, corticosteroides, ciclosporina, sulfasalazina, aminosalicilatos, 6-mercaptopurina, azatioprina, inhibidores de la lipoxigenasa;
35 metronidazol; mesalamina; olsalazina; balsalazida, antioxidantes, inhibidores de tromboxano, antagonistas de los receptores IL-1; anticuerpos monoclonales anti-IL-1, anticuerpos monoclonales anti-IL-6, factores de crecimiento, inhibidores de la elastasa, compuestos piridinil-imidazol, antagonistas del TNF como se describe en este documento;
40 citoquinas IL-4, IL-10, IL-13 y/o TGFβ o agonistas de los mismos (*por ejemplo*, agonistas

de anticuerpos); IL-11, profármacos glucurónico o dextrano conjugado de prednisolona, dexametasona, o budesonida, ICAM-1 oligodesoxinucleótidos de fosforotioato antisentido (ISIS 2302; Isis Pharmaceuticals, Inc.); mesalazina de liberación lenta; receptor soluble 1 del complemento (TP10; T Cell Sciences, Inc.), metotrexato, antagonistas del factor activador de plaquetas (PAF, por sus sigla en inglés), ciprofloxacina, y lidocaína.

Ejemplos no limitativos de agentes para el tratamiento o la prevención de la psoriasis con la que un anticuerpo de la invención puede ser combinado incluyen lo siguiente: corticosteroides, vitamina D3 y sus análogos; retinoides (*por ejemplo*, Soriatano), metotrexato, ciclosporina, 6-tioguanina, Accutane, Hydrea; hidroxiurea, sulfasalazina, micofenolato de mofetilo, azatioprina, tacrolimus, ésteres del ácido fumárico, biológicos, tales como Amevive, Enbrel, Humira Raptiva, y Remicade Ustekinmab y XP-828L, fototerapia y fotoquimioterapia (*por ejemplo*, psoraleno y la fototerapia ultravioleta combinada).

Ejemplos no limitativos de agentes para el tratamiento o la prevención enfermedades de las vías inflamatorias y respiratorias (*por ejemplo*, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma) con la que un anticuerpo de la invención puede ser combinado incluyen los siguientes: agonistas de los receptores beta 2 adrenérgicos (*por ejemplo*, salbutamol (albuterol USAN), levalbuterol, terbutalina, bitolterol), los agonistas de los receptores beta 2 adrenérgicos de acción prolongada (*por ejemplo*, salmeterol, formoterol, bambuterol), agonistas adrenérgicos (*por ejemplo*, epinefrina inhalada y tabletas de efedrina), medicamentos anticolinérgicos (*por ejemplo*, bromuro de ipratropio), combinaciones de esteroides inhalados y broncodilatadores de acción prolongada (*por ejemplo*, fluticasona / salmeterol (Advair en los Estados Unidos, y Seretide en el Reino Unido)) o budesonida / formoterol (Symbicort)), glucocorticoides inhalados (*por ejemplo*, ciclesonida, beclometasona, budesonida, flunisolida, fluticasona, mometasona, triamcinolona), modificadores de leucotrienos (*por ejemplo*, montelukast, zafirlukast, pranlukast, y zileuton), estabilizadores de los mastocitos (*por ejemplo*, cromoglicato (cromolin), y nedocromil); antimuscarínicos/anticolinérgicos (*por ejemplo*, ipratropio, oxitropio, tiotropio), metilxantinas (*por ejemplo*, teofilina, aminofilina), antihistamínicos, bloqueadores de IgE (*por ejemplo*, omalizumab), antagonistas muscarínicos M3 (anticolinérgicos) (*por ejemplo*, ipratropio, tiotropio), cromonas (*por ejemplo*, cromoglicato de nedocromilo); zantinas (*por ejemplo*, teofilina), y los antagonistas del TNF (*por ejemplo*, infliximab, adalimumab y etanercept).

En una modalidad, un anticuerpo de la invención puede ser utilizado en combinación con uno o más anticuerpos dirigidos contra blancos implicados en la regulación de la respuesta inmune, *por ejemplo*, el rechazo al trasplante.

Ejemplos no limitativos de agentes para el tratamiento o la prevención de la respuesta inmune con la que un anticuerpo de la invención puede ser combinado incluyen los siguientes: anticuerpos contra a otras moléculas de la superficie celular, incluyendo pero no limitados a CD25 (receptor a de la interleucina 2), CD11a (LFA- 1), CD54 (ICAM-1),

75

CD4, CD45, CD28/CTLA4 (CD80 (B7.1), *por ejemplo*, CTLA4 - Ig abatacept (ORENCIA[®])), ICOSL, ICOS y/o CD86 (B7.2). En otra modalidad, un anticuerpo de la invención se utiliza en combinación con uno o más agentes generales inmunosupresores, como la ciclosporina A y FK506.

- 5 En otras modalidades, los anticuerpos se utilizan como adyuvantes de vacunas contra trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, etc. La combinación de adyuvantes para el tratamiento de estos tipos de trastornos son adecuados para su uso en combinación con una amplia variedad de antígenos específicos de antígenos propios, es decir, autoantígenos, que participan en la autoinmunidad, *por ejemplo*, la proteína básica
- 10 de mielina; auto-antígenos inflamatorios, *por ejemplo*, la proteína amiloide, o antígenos de trasplante, *por ejemplo*, aloantígenos. El antígeno puede abarcar péptidos o polipéptidos derivados de las proteínas, así como fragmentos de alguna de los siguientes: glúcidos, proteínas, polinucleótidos u oligonucleótidos, autoantígenos, proteína de peptidos amiloides, antígenos de trasplante, alérgenos, u otros componentes macromoleculares.
- 15 En algunos casos, más de un antígeno está incluido en la composición antigénica.

Por ejemplo, las vacunas convenientes para moderar las respuestas a los alérgenos en un huésped vertebrado, que contienen las combinaciones de adyuvante de esta invención, incluyen aquellos que contienen un alérgeno o un fragmento del mismo. Ejemplos de estos alérgenos se describen en la patente de EE.UU. N° 5,830,877 y en la

20 publicación de la solicitud de Patente Internacional N° WO 99/51259, que se incorporan por referencia en su totalidad, e incluyen el polen, veneno de insectos, caspa de animales, esporas de hongos y fármacos (*por ejemplo*, coma penicilina). Las vacunas interfieren con la producción de anticuerpos de IgE, una causa conocida de las reacciones alérgicas. En otro ejemplo, las vacunas deseables para prevenir o tratar la enfermedad que se

25 caracteriza por el depósito amiloide en un huésped vertebrado, que contenga las combinaciones adyuvante de esta invención, incluyen aquellos que contienen porciones de la proteína de péptido amiloide (APP, por sus siglas en inglés). Esta enfermedad se conoce indistintamente como la enfermedad de Alzheimer, amiloidosis o enfermedad amiloidogénica. Por lo tanto, las vacunas de esta invención incluyen las combinaciones de

30 adyuvantes de esta invención más el péptido A β , así como los fragmentos del péptido A β y los anticuerpos para el péptido A β o sus fragmentos.

Diseño y Generación de Otras Terapéuticas

De acuerdo con la presente invención y con base en la actividad de los anticuerpos que se producen y caracterizan aquí con respecto a la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F, se

35 facilita el diseño de otras modalidades terapéuticas más allá de las fracciones de anticuerpo. Tales modalidades incluyen, sin limitación, terapéuticas avanzadas de anticuerpos, tales como anticuerpos biespecíficos, inmunotoxinas y terapéuticas radioetiquetadas, generación de terapéuticas de péptido, terapias genéticas, particularmente intracuerpos, terapéuticas antisentido y moléculas pequeñas.

Por ejemplo, en conexión con los anticuerpos biespecíficos, estos pueden ser generados para contener (i) dos anticuerpos con una especificidad para la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F, y otro para una segunda molécula que se conjugan juntos, (ii) un anticuerpo individual que tiene una cadena específica para la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F y una
5 segunda cadena específica para una segunda molécula, o (iii) un anticuerpo de una sola cadena que tiene especificidad para la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F y una segunda molécula. Tales anticuerpos biespecíficos se generan empleando técnicas que son bien conocidas, por ejemplo, en conexión con (i) y (ii) ver, Fanger *et al.* Immunol Methods 4:72-81 (1994) y Wright *et al.* Crit, Reviews in Immunol. 12:125-168 (1992), y en conexión con
10 (iii) ver, por ejemplo, Traunecker *et al.* Int. J. Cancer (Suppl.) 7:51-52 (1992).

En conexión con inmunotoxinas, anticuerpos que pueden ser modificados para actuar como inmunotoxinas utilizando técnicas bien conocidas en el arte, ver, por ejemplo, Vitetta Immunol Today 14:252 (1993). Ver también la Patente U.S. No. 5,194,594. En conexión con la preparación de anticuerpos radioetiquetados, tales anticuerpos modificados pueden
15 también ser fácilmente preparados utilizando técnicas bien conocidas en el arte. Ver, por ejemplo, Junghans *et al.* en Cancer Chemotherapy and Biotherapy 655-686 (2d edition, Chafner and Longo, eds., Lippincott Raven (1996)). Ver también las Patentes U.S. Nos. 4,681,581, 4,735,210, 5,101,827, 5,102,990 (RE 35,500), 5,648,471, y 5,697,902. Cada una de las inmunotoxinas y moléculas radioetiquetadas sería probable que maten células
20 que expresan la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F.

En conexión con la generación de péptidos terapéuticos, a través de la utilización de información estructural relacionada con la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F y anticuerpos para los mismos, tales como los anticuerpos de la invención o cribado de bibliotecas de péptidos, se pueden generar péptidos terapéuticos que son dirigidos contra la IL-17F, IL-
25 17A y/o IL-17A/IL-17F. El diseño y cribado de terapéuticas de péptidos se discuten en conexión con Houghten *et al.* Biotechniques 13:412-421 (1992), Houghten PNAS USA 82:5131-5135 (1985), Pinalla *et al.* Biotechniques 13:901-905 (1992), Blake y Litzi-Davis BioConjugate Chem. 3:510-513 (1992). También se pueden preparar inmunotoxinas y moléculas radioetiquetadas, y de manera similar, en conexión con fracciones de péptidos
30 como se discutió anteriormente con respecto a los anticuerpos. Asumiendo que la molécula de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F (o una forma tal como una variante de empalme o forma alternativa) es funcionalmente activa en un proceso de enfermedad, también será posible diseñar terapéuticas genéticas y antisentido para el mismo, a través de técnicas convencionales. Tales modalidades pueden ser utilizadas para modular la
35 función de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F. En conexión con esto, los anticuerpos de la presente invención facilitan el diseño y uso de ensayos funcionales relacionados con la misma. Un diseño y estrategia para las terapéuticas antisentido se discuten con detalle en la Solicitud de Patente Internacional No. WO 94/29444. El diseño y estrategias para la terapia genética son bien conocidos. Sin embargo, en particular, el uso de técnicas de
40 terapéutica genética que involucran intracuerpos podría ser particularmente ventajoso. Ver, por ejemplo, Chen *et al.* Human Gene Therapy 5:595-601 (1994) y Marasco Gene

77

Therapy 4:11-15 (1997). El diseño general y consideraciones relacionados con terapéuticas genéticas se discuten también en la Solicitud de Patente Internacional No. WO 97/38137.

El conocimiento obtenido a partir de la estructura de la molécula de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F y sus interacciones con otras moléculas de acuerdo con la presente invención, tales como los anticuerpos de la presente invención, y otras, puede ser utilizado para diseñar en forma racional modalidades terapéuticas adicionales. Con relación a esto, las técnicas racionales de diseño de fármacos como la cristalografía de rayos X, el modelado molecular ayudado (o asistido) por computador (CAMM, por su sigla en inglés), relación estructura-actividad cualitativa o cuantitativa (QSAR, por su sigla en inglés), y tecnologías similares, se pueden utilizar para focalizar los esfuerzos de descubrimiento de fármacos. El diseño racional permite la predicción de proteínas o estructuras sintéticas que pueden interactuar con la molécula o sus formas específicas que pueden usarse para modificar o modular la actividad de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F. Tales estructuras pueden ser sintetizadas químicamente o expresadas en sistemas biológicos. Este enfoque ha sido revisado en Capsey *et al.* Genetically Engineered Human Therapeutic Drugs (Stockton Press, NY (1988)). Además, bibliotecas combinatoriales pueden ser diseñadas, sintetizadas y usadas en programas de cribado, tales como esfuerzos de cribado de alto rendimiento.

Métodos de Cribado

La invención proporciona métodos (también referidos aquí como "ensayos de cribado") para identificar a los moduladores, es decir, compuestos candidatos o de prueba o agentes (por ejemplo, péptidos, peptidomiméticos, moléculas pequeñas u otros fármacos) que modulan, bloquean, inhiben, reducen antagonizan, neutralizan o interfieren de otro modo con la unión de la IL-17, IL-17A y/o el complejo IL-17A/IL-17F a su receptor innato, o compuestos candidatos o de prueba o agentes que modulan, bloquean, inhiben, reducen, antagonizan, neutralizan o interfieren de otro modo con la función de señalización de la IL-17, IL-17A y/o el complejo IL-17A/IL-17F. También se proporcionan procedimientos de identificación de compuestos útiles para tratar trastornos asociados con la señalización de la IL-17, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F. La invención incluye también compuestos identificados en los ensayos de cribado aquí descritos.

En una modalidad, la invención proporciona ensayos para cribar compuestos candidatos o de prueba que modulan la función de señalización de la IL-17, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F.

Se pueden obtener los compuestos de ensayo usando cualquiera de los numerosos procedimientos de bibliotecas combinatorias conocidos en la técnica, que incluyen bibliotecas biológicas, bibliotecas direccionables espacialmente en paralelo en fase sólida o en fase solución; procedimientos de bibliotecas sintéticas, que requieren desconvolución; el procedimiento de biblioteca "una perla un compuesto" y los procedimientos de bibliotecas sintéticas que usan la selección mediante cromatografía de afinidad. El enfoque de la biblioteca biológica se limita a las bibliotecas de péptidos,

28

mientras que los otros cuatro enfoques son aplicables a las bibliotecas de péptidos, oligómeros no péptidos, o bibliotecas de compuestos de moléculas pequeñas. (Véase, por ejemplo, Lam, *Anticancer Drugs Design* 12, 145, 1997).

Una "molécula pequeña", como se utiliza en este documento, se refiere a una composición que tiene un peso molecular inferior a aproximadamente 5 kD, y con mayor preferencia inferior a aproximadamente 4 kD. Las moléculas pequeñas pueden ser, por ejemplo, ácidos nucleicos, péptidos, polipéptidos, peptidomiméticos, carbohidratos, lípidos u otras moléculas orgánicas e inorgánicas. Las bibliotecas de mezclas químicas y/o biológicas, tales como extractos fúngicos, bacteriales o de algas se conocen en la técnica y pueden ser cribadas con cualquiera de los ensayos de la invención.

Ejemplos de procedimientos para la síntesis de bibliotecas moleculares se pueden encontrar en la técnica, por ejemplo en DeWitt, et al., 1993. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90: 6909; Erb, et al., 1994. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91: 11422; Zuckermann, et al., 1994. *J. Med. Chem.* 37: 2678; Cho, et al., 1993. *Science* 261: 1303; Carrell, et al., 1994. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33: 2059; Carell, et al., 1994. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33: 2061; and Gallop, et al., 1994. *J. Med. Chem.* 37: 1233.

Se pueden presentar las bibliotecas de compuestos en solución (véase, por ejemplo, Houghten, 1992. *Biotechniques* 13: 412-421), o en perlas (véase Lam, 1991. *Nature* 354: 82-84), en chips (véase Fodor, 1993. *Nature* 364: 555-556), bacterias (véase Patente U.S. No. 5,223,409), esporas (véase Patente U.S. 5,233,409), plásmidos (véase Cull, et al., 1992. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 1865-1869) o en fagos (véase Scott and Smith, 1990. *Science* 249: 386-390; Devlin, 1990. *Science* 249: 404-406; Cwirla, et al., 1990. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87: 6378-6382; Felici, 1991. *J. Mol. Biol.* 222: 301-310; and Patente U.S. No. 5,233,409.).

En una modalidad, un compuesto candidato es introducido en un complejo anticuerpo-antígeno y se determina si el compuesto candidato desorganiza el complejo anticuerpo-antígeno, en cuyo caso, la desorganización de este complejo indica que el compuesto candidato modula la función de señalización de la IL-17, IL-17A y/o el complejo IL-17A/IL-17F. Por ejemplo, el anticuerpo es el anticuerpo monoclonal 5E12 ("Mab05") y el antígeno es IL-17F, o el anticuerpo es el anticuerpo monoclonal 41B10 y el antígeno es la IL-17F o IL-17A/IL-17F. En forma alternativa, el anticuerpo monoclonal es 30D12, 29D8, 1E4, 31A3, 39F12, 12B12, 15B7, 4H11, 4B11, 8B11, 38B1, 15E6, 30D12BF, 15E6FK, o 39F12A y el antígeno es la IL-17F, IL-17A o el complejo IL-17A/IL-17F.

En otra modalidad, se proporciona y expone el complejo IL-17A/IL-17F a por lo menos un anticuerpo monoclonal neutralizante. La formación de un complejo anticuerpo-antígeno es detectada, y uno o más compuestos candidatos se introducen en el complejo. Si el complejo anticuerpo-antígeno se desorganiza siguiendo la introducción de uno o más compuestos candidatos, estos son útiles para tratar trastornos asociados con la señalización de la IL-17F, IL-17A y o IL-17A/IL-17F.

En otra modalidad, se proporciona y expone una proteína soluble de la invención a por lo menos un anticuerpo monoclonal neutralizante. La formación de un complejo anticuerpo-

antígeno es detectada, y uno o más compuestos candidatos se introducen en el complejo. Si el complejo anticuerpo-antígeno se desorganiza siguiendo la introducción de uno o más compuestos candidatos, estos son útiles para tratar trastornos asociados con la señalización de la IL-17F, IL-17A y o IL-17A/IL-17F.

- 5 La determinación de la capacidad del compuesto de prueba para interferir con o desorganizar el complejo anticuerpo-antígeno se puede lograr, por ejemplo, acoplado el compuesto de prueba con una etiqueta de radioisótopo o enzimática de modo que la unión del compuesto de prueba al antígeno o a la porción biológicamente activa del mismo, se puede determinar detectando el compuesto etiquetado en un complejo. Por
- 10 ejemplo, los compuestos de prueba pueden ser etiquetados con ^{125}I , ^{35}S , ^{14}C , o ^3H , ya sea directa o indirectamente, y el radioisótopo detectado por conteo directo de la radioemisión o por conteo del centelleo. Alternativamente, los compuestos de prueba pueden ser etiquetados enzimáticamente con, por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina o luciferasa, y la etiqueta enzimática detectada mediante la determinación de la
- 15 conversión de un sustrato apropiado en producto.

En una modalidad, el ensayo comprende contactar un complejo anticuerpo-antígeno con un compuesto de prueba, y determinar la capacidad del compuesto de prueba para interactuar con el antígeno o de otro modo desorganizar el complejo anticuerpo-antígeno existente. En esta modalidad, la determinación de la capacidad del compuesto de prueba

20 para interactuar con el antígeno y/o desorganizar el complejo anticuerpo-antígeno comprende la determinación de la capacidad del compuesto de prueba para unirse de preferencia al antígeno o la porción biológicamente activa del mismo, en comparación con el anticuerpo.

En otra modalidad, el ensayo comprende poner en contacto un complejo anticuerpo-antígeno con un compuesto de prueba y determinar la capacidad del compuesto de prueba para modular el complejo anticuerpo-antígeno. La determinación de la capacidad del compuesto de prueba para modular el complejo anticuerpo-antígeno se puede lograr, por ejemplo, estableciendo la capacidad del antígeno para unirse o interactuar con el anticuerpo, en presencia del compuesto de prueba.

25 Los expertos en la técnica reconocerán que, en cualquiera de los métodos de cribado revelados aquí, el anticuerpo puede ser un anticuerpo neutralizante, tal como un anticuerpo monoclonal 30D12, 29D8, 1E4, 31A3, 4B11, 39F12, 12B12, 15B7, 4H11, 8B11, 38B1, 15E6, 30D12BF, 15E6FK, o 39F12A, cada uno de los cuales modula o interfiere de otro modo con la producción de citoquina proinflamatoria.

30 Los procedimientos de cribado aquí divulgados se pueden llevar a cabo como un ensayo basado en células o un ensayo libre de células. Los ensayos libres de células de la invención son favorables para usar la IL-17F, IL-17A, y o IL-17A/IL-17F solubles, y fragmentos de los mismos.

En más de una modalidad, puede ser deseable inmovilizar ya sea el anticuerpo o el

40 antígeno, para facilitar la separación de las formas complejas de las no complejas de uno o ambos, luego de la introducción del compuesto candidato, así como también adaptar la

automatización del ensayo. La observación del complejo anticuerpo-antígeno en presencia y ausencia de un compuesto candidato, se puede llevar a cabo en cualquier recipiente adecuado para contener los reactivos. Ejemplos de tales recipientes incluyen placas de microvaloración, tubos de ensayo y tubos de micro centrifugación. En una modalidad, se puede proporcionar una proteína de fusión que añada un dominio que permita que una o ambas proteínas se unan a una matriz. Por ejemplo, las proteínas de fusión GST-anticuerpo o proteínas de fusión GST-antígeno pueden ser adsorbidas en perlas de glutatión sefarosa (Sigma Chemical, St. Louis, MO) o placas de microvaloración derivatizadas con glutatión, que se combinan a continuación con el compuesto de ensayo, y la mezcla se incuba bajo condiciones conductoras para la formación del complejo (por ejemplo, en condiciones fisiológicas para la sal y el pH). Tras la incubación, se lavan las perlas o los pocillos de las placas de microvaloración para eliminar cualquier componente no unido, la matriz se inmoviliza en el caso de las perlas, y se determina el complejo ya sea directa o indirectamente. Alternativamente, los complejos se pueden disociar de la matriz, y se puede determinar el nivel de formación del complejo anticuerpo-antígeno empleando técnicas estándar.

Se pueden emplear también otras técnicas para inmovilizar proteínas en matrices, en los ensayos de cribado de la invención. Por ejemplo, ya sea el anticuerpo (por ejemplo, 30D12, 29D8, 1E4, 31A3, 39F12, 12B12, 15B7, 4H11, 4B11, 8B11, 38B1, 15E6, 30D12BF, 15E6FK o 39F12A) o el antígeno (por ejemplo la proteína IL-17F, IL-17A o IL-17A/IL-17F) se pueden inmovilizar utilizando la conjugación de biotina y estreptavidina. Las moléculas de anticuerpo o antígeno biotiniladas se pueden preparar a partir de biotina-NHS (N-hydroxi-succinimida) utilizando técnicas bien conocidas dentro de la técnica (por ejemplo, el kit de biotinilación, Pierce Chemicals, Rockford, Ill.), e inmovilizarse en los pocillos de las placas de 96 pocillos recubiertos con estreptavidina (Pierce Chemical). De manera alternativa, otros anticuerpos que reaccionan con el anticuerpo o antígeno de interés, pero que no interfieren con la formación del complejo anticuerpo-antígeno de interés, se pueden derivatizar en los pocillos de la placa, y los anticuerpos o antígenos no unidos se atrapan en los pocillos por conjugación de los anticuerpos. Los procedimientos para detectar dichos complejos, a más de los descritos anteriormente para los complejos inmovilizados mediante GST, incluyen la inmunodetección de los complejos usando anticuerpos reactivos con el anticuerpo o antígeno.

La invención se relaciona además con agentes novedosos identificados por cualquiera de los ensayos de cribado antes mencionados, y usos de los mismos para tratamiento como se describe en este documento.

Formulaciones de Diagnóstico y Profilácticas

Los hIL-17A/F MAbs de la invención se usan en formulaciones de diagnóstico y profilácticas. En una modalidad, un antagonista de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F, tal como un hIL-17A/F MAb de la invención, se administra a pacientes que están en riesgo

de desarrollar una o más de las enfermedades autoinmunes o inflamatorias antes mencionadas, tales como por ejemplo, y sin limitación, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, psoriasis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica de esclerosis múltiple, asma, angiogénesis y cáncer. La predisposición de un paciente u órgano para uno o más de los

5 trastornos autoinmunes, inflamatorios y de proliferación celular mencionados puede ser determinada utilizando marcadores genotípicos, serológicos o bioquímicos.

En otra modalidad de la invención, un antagonista de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F, tal como un anticuerpo huIL-17A/F se administra a individuos humanos diagnosticados con una indicación clínica asociada con una o más de las enfermedades autoinmunes o

10 inflamatorias antes indicadas, tales como artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, psoriasis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica de esclerosis múltiple, asma, angiogénesis y cáncer. Al momento del diagnóstico, un antagonista de la IL-17F, IL-17A and/or IL-17A/IL-17F, tal como un anticuerpo huIL-17A/F se administra para mitigar o revertir los efectos de la indicación clínica asociada con la artritis reumatoide, enfermedad

15 de Crohn, psoriasis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica de esclerosis múltiple, asma, angiogénesis y cáncer.

Los anticuerpos de la invención son también útiles en la detección de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F en muestras de pacientes y por lo tanto son útiles para el diagnóstico. Por ejemplo, los anticuerpos huIL-17A/F de la invención se utilizan en ensayos *in vitro*, por

20 ejemplo, ELISA, para detectar los niveles de la IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F en una muestra de un paciente.

En una modalidad, un anticuerpo huIL-17A/F de la invención se inmoviliza sobre un soporte sólido (por ejemplo, los pocillos de una placa de microvaloración). El anticuerpo inmovilizado sirve como un anticuerpo de captura para cualquiera de la IL-17F, IL-17A y/o

25 IL-17A/IL-17F que pueden estar presentes en una muestra de prueba. En forma previa al contacto del anticuerpo con la muestra del paciente, el soporte sólido se lava y trata con un agente de bloqueo como proteína de leche o albúmina para prevenir la adsorción no específica del analito.

A continuación los pocillos se tratan con una muestra de prueba sospechosa de contener el antígeno, o con una solución que contiene una cantidad estándar del antígeno. Tal

30 muestra es, por ejemplo, una muestra de suero de un sujeto sospechoso de tener niveles de antígeno en circulación considerados como diagnóstico de una patología. Después de lavar la muestra de prueba o estándar, el soporte sólido se trata con un anticuerpo secundario que es etiquetado de manera detectable. El segundo anticuerpo etiquetado

35 sirve como un anticuerpo de detección. Se mide el nivel de la etiqueta detectable y se determina la concentración del antígeno IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F en la muestra de prueba, por comparación con una curva estándar desarrollada a partir de las muestras estándar.

Se reconocerá que con base en los resultados obtenidos usando los anticuerpos huIL-17A/F de la invención en un ensayo de diagnóstico *in vitro*, es posible determinar la etapa

40 de una enfermedad (por ejemplo, una indicación clínica asociada con isquemia, un

82

trastorno autoinmune o inflamatorio) en un sujeto, con base en los niveles de expresión del antígeno IL-17F, IL-17A y/o IL-17A/IL-17F. Para una enfermedad determinada, se toman muestras de sangre de sujetos diagnosticados de estar en diferentes etapas en la progresión de la enfermedad, y/o en varios puntos en el tratamiento terapéutico de la enfermedad. Utilizando una población de muestras que proporciona resultados estadísticamente significativos para cada etapa de progresión o terapia, se designa un rango de concentraciones del antígeno que puede ser considerado característico de cada etapa.

Todas las publicaciones y documentos de patente aquí citados se incorporan por referencia como si cada publicación o documento fueran específica e individualmente indicados de incorporarse aquí por referencia. La cita de publicaciones y documentos de patente no pretende ser un reconocimiento de que cualquiera es arte previo pertinente, ni constituye ninguna admisión en cuanto a los contenidos o fecha de los mismos. Habiendo sido descrita la invención a modo de memoria descriptiva escrita, los expertos en la materia reconocerán que la invención se puede practicar en una variedad de modalidades y que la descripción anterior y los ejemplos que se presentan a continuación son para fines de ilustración y no limitan las reivindicaciones que siguen.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1: Clonación, Expresión y Purificación de la IL-17F humana, ILF de rata, IL-17F y IL-17A de cinomolgo

Clonación

Los cADNs que codifican la IL-17F humana madura (AF384857, aa 31-163), la IL-17F de rata (AAH91568, aa 21-153) IL-17F de cinomolgo (idénticos a la secuencia XP_001106517 aa 31-163,) y la IL-17A de cinomolgo (idénticos a la secuencia XP_001106391, aa 20-155) fueron amplificados por PCR y clonados en el vector PCR4TOPO (Invitrogen). Luego de otro paso PCR, una etiqueta His o una etiqueta His seguida por una AviTag (Avidity, Denver CO) fueron introducidas en la extremidad-N de la secuencia de codificación de la citoquina. Estas construcciones fueron entonces fusionadas a una secuencia líder y sub-clonadas en vectores de expresión correspondientes.

Expresión y purificación de la IL-17F humana e IL-17F de rata a partir de células infectadas con baculovirus

Los hIL-17F His-etiquetados o la IL-17F de rata precedidos por una secuencia líder GP67 (MLLVNQSHQGFGNKEHTSKMVSAIVLYVLLAAAAHSAFA; ID SEC NO:41) fueron sub-clonados en un vector bacmid baculovirus pFASTBAC Dual (Invitrogen). Luego de la transfección en células Sf9, el virus recombinante fue aislado y amplificado. Para la producción de proteína, células Hi5 o SF9 fueron infectadas con baculovirus e incubadas a 27°C durante 3 días. El medio de cultivo celular fue clarificado mediante centrifugación, filtrado y concentrado aproximadamente 10 veces en SartoFlow Slice 200 (Sartorius -

Hydrosart cutoff 10 kD). Luego de ajustar el pH a 7.0 y otro paso de centrifugación, la proteína concentrada fue purificada empleando procedimientos estándar en columnas Ni-NTA Superflow (Qiagen) o en columnas HiTrap Chelating HP (GE Healthcare) cargadas con iones Ni^{2+} . Las fracciones que contenían la IL-17F fueron reunidas y desalinizadas en columnas PD-10 (GE Healthcare).

La IL-17F humana y la IL-17F de rata de las células infectadas con baculovirus estuvieron esencialmente libres de contaminantes luego de un paso de purificación y aparecieron predominantemente como homodímeros unidos por disulfuro, como se demostró mediante SDS-PAGE no reductor. La actividad biológica de la IL-17F humana expresada en baculovirus, His-etiquetada, fue comparable a la actividad de las citoquinas comerciales (huIL-17F expresada en *E. Coli*, Peprotech EC or R&D Systems).

Expresión y purificación de la IL-17F humana y la IL-17F de rata a partir de células CHOK1SV

Secuencias de codificación huIL-17F o IL-17F de rata precedidas por la secuencia líder CD33 (MPLLLLLLPLLWAGALAMD; ID SEC NO:42), más una etiqueta His, y una AviTag (Avidity, Denver CO) se colocaron bajo el control del promotor hCMV en el vector de expresión pEE14.4. La IL-17F fue expresada a partir de ARNm bicistrónico que contiene un sitio de entrada de ribosoma interno viral (IRES, por su sigla en inglés) y la secuencia de codificación GFP como el segundo cistón. El vector pEE14.4. contiene el gen glutamina sintetasa (GS), esencial para la supervivencia de las células transfectadas en el medio de selección que contiene metionina sulfoximina (MSX). Transfectantes estables fueron generados en la línea celular CHOK1SV cell line, propiedad de Lonza Biologics. Luego de cuatro semanas de cultivo en la presencia de MSX, clones de alta expresión fueron identificados, expandidos y utilizados para la producción de la IL-17F humana o de rata.

La IL-17F humana y la IL-17F de rata expresadas en CHOK1SV fueron purificadas mediante cromatografía de afinidad Ni^{2+} . Estuvieron esencialmente libres de contaminantes y aparecieron como homodímeros unidos con disulfuro sobre geles SDS-PAGE no reductores. La actividad biológica de las IL-17F humanas His+Avi-etiquetadas, CHO-expresadas estuvo significativamente disminuida en comparación con la actividad de la huIL-17F comercial, debido probablemente a la presencia de una etiqueta doble, voluminosa en la extremidad-N.

Expresión y purificación de la IL-17F cnIL-17F y cnIL-17A humanas a partir de células PEAK

Secuencias de codificación huIL-17A/F, cnIL-17F, o cnIL-17A His-etiquetadas fueron fusionadas a la secuencia líder *Gaussia princeps* luciferasa (AF015993) y colocadas bajo el control del promotor EF1 en el vector de expresión episomal pEAK8. La secuencia de codificación de citoquina fue seguida por un sitio de entrada de ribosoma interno viral (IRES) y un segundo cistón (GFP). El vector pEAK8 contiene el gen de resistencia a puomicina, el antígeno nuclear 1 de EBV (EBVNA1) y el origen de replicación *oriP*.

EBNA1 y *oriP* son necesarios para la propagación del vector pEAK8 como ADN episomal en células humanas y la generación de transfectantes estables. Se obtuvieron células transfectadas de manera estable luego de 7-10 días de cultivo en presencia de 2 ug/ml de puromicina. Las poblaciones de células resistentes a puromicina fueron expandidas y utilizadas para la producción de citoquina.

Las PEAK – expresadas, purificadas por cromatografía de afinidad Ni^{2+} , tuvieron una pureza >95% y se encontraron predominantemente en la forma de homodímeros unidos con disulfuro, como se demostró por SDS-PAGE no reductor. La actividad biológica de la IL-17F humana His-etiquetada, PEAK-expresada fue similar a la actividad de la huIL-17A de fuentes comerciales.

EJEMPLO 2: Inmunizaciones

Anticuerpos monoclonales totalmente humanos fueron generados utilizando razas transgénicas de ratones en los cuales la expresión génica del anticuerpo de ratón fue suprimida y reemplazada con expresión génica de anticuerpo. Tres razas de ratones transgénicos fueron usadas:

- 1) Ratón HuMab® (Medarex, Princeton NJ)
- 2) Ratón KM™, un cruce entre Ratón HuMab Mouse y Ratón Kirin's TC (Kirin Pharma Company, Japan)
- 3) Ratón KM (FCγRIIb-KO), una raza derivada de ratón KM™, en el cual el gen *Fcgr2b* que codifica para el Fc gamma Receptor IIB inhibitorio ha sido inactivado.

Los ratones fueron inmunizados ya sea con la IL-17F humana o tanto la IL-17F humana como la IL-17F de rata. Dos formas de antígeno fueron utilizadas para las inmunizaciones: la IL-17F o la IL-17F conjugada a Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH). Las estrategias de inmunización siguieron los protocolos estándar de la literatura.

Sueros de animales inmunizados fueron cribados periódicamente mediante ELISA para establecer la presencia de IgG humana dirigida contra huIL-17F, IL-17F de rata, y huIL-17A (Peprotech EC cat No 200-17). La mayoría de los animales desarrollaron respuestas de alta valoración a la IL-17F humana. Cuando se utilizaron tanto la IL-17F de rata como huIL-17F para las inmunizaciones, la mayoría de los animales desarrollaron respuestas de alta valoración a ambos antígenos. De manera importante, una proporción significativa de ratones KM y ratones KM (FCγRIIb-KO) inmunizados tanto con huIL-17F como con la IL-17F de rata desarrollaron respuestas reactivas cruzadas a huIL-17A. Respuestas reactivas cruzadas fueron observadas esporádicamente en ratones KM y KM (FCγRIIb-KO) inmunizados con huIL-17F como el único antígeno (es decir, sin la IL-17F de rata). En forma contraria a los ratones KM y KM (FCγRIIb-KO), los ratones HuMab no desarrollaron valoraciones reactivas cruzadas a huIL-17A, con independencia del protocolo de inmunización empleado.

EJEMPLO 3: Generación de hibridomas

85

Fusión de Células de Ganglios Linfáticos Con Células de Mieloma SP2/0

Para obtener hibridomas, se removieron ganglios linfáticos poplíteos, inguinales, para-aórticos, submandibulares, cervicales, axiales y braquiales de los ratones y fueron digeridos con colagenasa y ADNasa. Una suspensión de células individuales de células de ganglio linfático fue mezclada en una proporción de 1:1 con células de mieloma SP2/0 y suspendida en Cytofusion Low Conductivity Medium (CPS-LCMC, CytoPulse Sciences, Inc.). Se practicaron fusiones con 30 a 60 millones de esplenocitos en el aparato CytoPulse CEEF50 Electrofusion como lo indica el fabricante (Cyto Pulse Sciences, Inc). Luego de la electrofusión, las células fueron incubadas por aproximadamente 1 hora a 37°C para permitir la recuperación antes de la distribución en placas de 96 pocillos.

Cultivo de Hibridomas

Las células fusionadas fueron resuspendidas en un medio de selección HAT y plaqueadas en 44 a 52 placas de 96 pocillos a una concentración celular de $0.1-0.2 \times 10^5$ esplenocitos por pocillo en 200 µl de medio. La selección de hibridoma procedió durante 14 días. La fusión de ganglios linfáticos de ratones inmunizados resultó en la generación de hibridomas que producen anticuerpos específicos para huIL-17F o anticuerpos reactivos cruzados específicos tanto para huIL-17F como para huIL-17A.

Cribado de Hibridoma

Catorce días luego de la fusión, las placas que contenían hibridoma fueron cribadas para establecer la presencia de IgG humana uniéndose a la IL-17F humana y/o a la IL-17A humana mediante FLISA (Ensayo de Inmunosorbencia ligado a Fluorescencia, por su sigla en inglés). Brevemente, perlas de 6 micrones (Polybeads, cat. No 07312, Polysciences Inc.) fueron recubiertas con huIL-17F, huIL-17A (ambos de Peprotech EC) o BSA (Sigma) y fueron distribuidas en placas ópticas de 384 pocillos FMAT® (Applied Biosystems) a una densidad de 5,000 perlas por pocillo. Las perlas fueron mezcladas con un pequeño volumen de sobrenadantes del cultivo de hibridoma (30 µl por pocillo) e incubadas durante la noche antes de la adición de IgG Fc anti-humana de cabra (Jackson Immunoresearch No 109-005-098) conjugada a colorante FMAT Blue® (Applied Biosystems). Luego de un período de incubación de 2 a 8 horas, se midió la fluorescencia de las perlas en un analizador 8200 Cellular Detection System (Applied Biosystems). Los hibridomas que producen IgGs humanas que se unieron a huIL-17F, huIL-17A o a ambos, huIL-17F y huIL-17A, pero no a BSA, fueron expandidos y sometidos a análisis adicional.

EJEMPLO 4: Reactividad Cruzada de Anticuerpos huIL-17F

Ensayo de unión: se probaron anticuerpos huIL-17F para establecer su capacidad de unirse a otros miembros de la familia IL-17 de citoquinas, así como también a la IL-17A y a la IL-17F de otras especies. El ensayo fue llevado a cabo en el formato FLISA, como se describió antes. Las siguientes citoquinas recombinantes fueron unidas a perlas de poliestireno y probadas para establecer su capacidad para unir anticuerpos huIL-17F:

26

- heterodímero de hu IL17A-F (R&D Systems, cat No 5194-IL-025/CF) (huIL17B (PeprotechEC, cat No 200-28), huIL-17C (R&D Systems, cat No 1234-IL-025/CF), huIL-17D (PeprotechEC, cat No 200-27), huIL-17E (huIL-25, PeprotechEC, cat No 200-24), muIL-17A (PeprotechEC, cat No 210-17), muIL-17F (PeprotechEC, cat No 200-17F),
- 5 heterodímero de mu IL-17A-F (R&D Systems, cat No 5390-IL-025/CF) IL-17F de rata (His-etiquetada, producida dentro de la organización, en células de insecto), IL-17A de rata (His-etiquetada, producida dentro de la organización, en células PEAK), cyIL-17F, cyIL-17A y el heterodímero de cyIL-17A-F (los tres producidos dentro de la organización, en células PEAK). La capacidad de los anticuerpos individuales huIL-17F para unir estas
- 10 diferentes citoquinas se resume en la Tabla 3 a continuación:

88

Tabla 3: Reactividad cruzada de anticuerpos huIL-17F como se determina mediante FLISA

especie	humano							cinomolgo	
dímero:	IL-17F	IL-17A	IL-17A/F	IL-17B	IL-17C	IL-17D	IL-17E	IL-17F	IL-17A
nombre del clon									
30D12	+	+	+	-	-	-	-	+	+
29D8	+	+	+	-	-	-	-	+	+
1E4	+	+	+	-	-	-	-	+	+
31A3	+	+	+	-	-	-	-	+	+
5E12	+	-	-	-	-	-	-	+	-
39F12	+	+	+	-	-	-	-	+	+
12B12	+	+	+	-	-	-	-	+	+
15B7	+	+	+	-	-	-	-	+	+
4H11	+	+	+	-	-	-	-	+	+
41B10	+	-	+	-	-	-	-	+	-
8B11	+	+	+	-	-	-	-	+	+
38B1	+	+	+	-	-	-	-	+	+
15E6	+	+	+	-	-	-	-	+	+
4B11	+	+	+	-	-	-	-	+	+

EJEMPLO 5: Medida de afinidad y cinética de unión de anticuerpos de reactividad cruzada hulL-17A/F a través de Resonancia de Plasmón Superficial (Biacore)

La afinidad y cinética de unión de los anticuerpos de reactividad cruzada hulL-17F fueron caracterizadas en un instrumento Biacore 2000 (Biacore AB, Uppsala, Sweden). Tres chips CM5 Biacore fueron usados sucesivamente y se inmovilizaron 3600, 1800 y 1540 UR (unidades de respuesta) de una IgG Fc anti-humana (Biacore AB, Upsala, Suecia) mediante química EDC/NHS sobre estos chips. Esta superficie fue usada para capturar anticuerpos hulL-17A/F. La superficie fue regenerada luego de cada ciclo por inyección de glicina 10mM pH=1.5 a 20µL/min, por 30s seguida por 1min de tiempo de estabilización en búfer HBS-EP (Biacore AB, Uppsala, Sweden).

La unión fue medida pasando varias citoquinas díméricas IL-17 por duplicado a las siguientes concentraciones: 90nM, 30nM, 10nM, 3.33nM, 1.11nM y 0nM. Todas las soluciones fueron diluidas en búfer HBS-EP. La inyección se llevó a cabo a 75µl/min por 3 min seguida por 12min de tiempo de disociación y la temperatura fue ajustada a 25°C. Las curvas de unión de sustracción de fondo fueron ajustadas de acuerdo con el modelo de Langmuir 1:1 y se determinaron los valores de las constantes de velocidad de asociación (k_a), de velocidad de disociación (k_d) y de disociación (K_D). Las Tablas 4 y 5 resumen las afinidades y las constantes cinéticas de los anticuerpos de reactividad cruzada hulL-17F.

Tabla 4: Afinidad de los anticuerpos de reactividad cruzada hulL-17F por los dímeros IL-17 humanos

MAb	dímero citoquina	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_d (M)	K_d (pM)
15E6	hulL-17A	5.99 e+06	2.18 e-04	3.64 e-11	36.4
	hulL-17F	7.94 e+06	6.76 e-05	8.51 e-12	8.51
	hulL-17A/F	1.41 e+06	6.31 e-05	4.47 e-11	44.7
30D12	hulL-17A	1.71 e+06	1.02 e-04	5.94 e-11	59.4
	hulL-17F	2.31 e+06	6.61 e-04	2.86 e-10	286
	hulL-17A/F	1.02 e+06	1.00 e-04	9.81 e-11	98.1
39F12	hulL-17A	3.73 e+06	3.34 e-04	8.95 e-11	89.5
	hulL-17F	2.40 e+05	4.37 e-09	<1.00 e-12	<1.00
	hulL-17A/F	8.11 e+05	3.26 e-04	4.02 e-10	402

Tabla 5: Afinidad del anticuerpo 15E6FK por los dímeros IL-17 de diferentes especies

especie	dímero citoquina	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_d (M)	K_d (pM)
humano	IL-17A	1.91 e+06	2.24 e-05	1.17 e-11	11.7
	IL-17F	1.62 e+06	1.33 e-05	8.20 e-12	8.20
	IL-17A/F	5.50 e+05	1.34 e-05	2.44 e-11	24.4
cinomolgo	IL-17A	2.59 e+06	2.71 e-05	1.04 e-11	10.4
	IL-17F	2.39 e+06	8.25 e-06	3.45 e-12	3.45
	IL-17A/F	2.75 e+05	1.08 e-05	3.94 e-11	39.4
ratón	IL-17A	(-)	(-)	(-)	(-)
	IL-17F	2.30 e+06	5.55 e-04	2.36 e-10	236
	IL-17A/F	2.97 e+05	1.55 e-04	5.24 e-10	524
rata	IL-17A	(-)	(-)	(-)	(-)

	IL-17F	1.65 e+06	8.09 e-04	4.90 e-10	490
--	--------	-----------	-----------	-----------	-----

(-) unión no detectable

EJEMPLO 6: Estudios de Competencia de Unión MAb 15E6FK/ Receptor IL- 17

Este estudio fue llevado a cabo para evaluar si el anticuerpo de reactividad cruzada 15E6FK compite con el receptor IL- 17RA para unirse a la IL- 17A.

Se llevaron a cabo estudios de competencia de unión Biacore utilizando anticuerpo 15E6FK inmovilizado, homodímeros de IL-17A humanos solubles, y quimeras IL-17RA/Fc humanas recombinantes solubles o de ratón como competidores. Un anticuerpo IgG-κ anti-humano fue inmovilizado en un chip CM5 Biacore utilizando química EDC/NHS. Esta superficie fue utilizada para capturar al anticuerpo 15E6FK. Para estudios de competencia, el homodímero de IL-17A humano (30nM) fue preincubado con exceso de proteínas de fusión IL17RA/Fc humanas o de ratón recombinantes (R&D Systems cat## 177-IR y 4481-MR) durante 1 hora. La unión de varias mezclas IL-17A-IL-17RA fue entonces medida en un instrumento Biacore 2000 como se describió antes (ejemplo 5). La preincubación de IL-17A con proteínas de fusión del receptor soluble IgG-Fc de origen humano o murino a una proporción molar de 1:1 IL-17A a IL-17RA-Fc redujo la unión de IL-17A al anticuerpo 5E6FK inmovilizado en más del 90%. La preincubación de IL-17A con proteínas de fusión del receptor soluble IgG-Fc de origen humano o murino a una proporción molar de 1:25 IL-17A a IL-17RA-Fc eliminó la unión de la IL-17A al anticuerpo 15E6FK inmovilizado completamente (~100% de inhibición), demostrando que las interacciones de homodímeros de IL-17A humanos con receptores IL-17RA y el anticuerpo 15E6FK son mutuamente exclusivos.

EJEMPLO 7: Ensayos biológicos para la actividad de IL-17F e IL-17A

Secreción de IL-6 por Fibroblastos Embrionarios de Ratón IL-17-estimulados

La IL-17A y la IL-17F humanas se unen al correspondiente receptor IL-17 de ratón. Como consecuencia, los fibroblastos de ratón pueden responder tanto a la IL-17A como a la IL-17F humanas. Los fibroblastos embrionarios C57BL/6 de ratón (MEF, ATCC No SCRC-1008) fueron por lo tanto empleados para ensayar la actividad de huIL-17A y huIL-17F. Brevemente, se cultivaron células MEF sembradas en placas de 96 pocillos en DMEM + Glutamine + 10% Suero Bovino Fetal (FBS, por su sigla en inglés) durante 48 h antes de la adición de las citoquinas, huIL-17A o huIL-17F y TNFα de ratón a 10 ng/ml (Peprotech EC, cat No 315-01A). Se mostró que la co-estimulation con TNF produce sinergia con la señalización de la IL-17 (Ruddy et al. 2004, J.Biol.Chem 279:2559), incrementando significativamente la sensibilidad de los fibroblastos de ratón a la IL-17A y a la IL-17F. En ensayos para la actividad de neutralización de MAb, las citoquinas IL-17 fueron pre-incubadas con el anticuerpo durante 1 hora antes de añadir a las células. Luego de 24 horas de estimulación en la presencia de citoquinas, los sobrenadantes fueron recolectados y se midió la concentración de la IL-6 de ratón mediante emparejado ELISA utilizando anticuerpo IL6 anti ratón de rata (BD cat No 554400) para captura y un segundo

90

- anticuerpo IL6 anti ratón de rata, biotilado (BD 554402.) más estreptavidina HRP (Jackson ImmunoResearch 016-030-084) para detección. La Tabla 6 resume los valores IC_{50} , obtenidos a partir de las curvas de calibración IL-6 empleando técnicas estadísticas estándar. La IL-17A y la IL-17F de cinomolgo, ratón o rata también son activas en células
- 5 MEF y fueron probadas contra los anticuerpos monoclonales de la invención de acuerdo con los métodos antes descritos.

Tabla 6: Valores IC₅₀ para la inhibición de citoquinas IL-17 de diferentes especies obtenidas con anticuerpos huIL-17F; n.t., no probado; (—) no se observó inhibición o IC₅₀ no se pudo determinar (IC₅₀>1 µM)

especie	humano			cinomolgo			ratón	
dímero IL-17:	IL-17F	IL-17A	IL-17A/F	IL-17F	IL-17A	IL-17A/F	IL-17F	IL-17A
IL-17 conc.	50 ng/ml	5 ng/ml	17.5 ng/ml	25 ng/ml	5 ng/ml	25 ng/ml	50 ng/ml	5 ng
Nombre del clon	IC ₅₀ (nM)							
30D12	120	1.1	31	130	3.0	15	n.t.	n.t.
30D12 BF	90	1.6	27	130	2.5	13	n.t.	n.t.
29D8	1.5	40	1.1	3.6	8.4	0.56	n.t.	n.t.
1E4	1.5	480	16	3.4	330	n.t.	n.t.	n.t.
31A3	2.5	250	9.2	4.2	290	n.t.	n.t.	n.t.
5E12	3.4	(—)	(—)	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
39F12	1.9	9.8	11	5.2	4.7	16	4.0	(—)
39F12A	1.3	13	4.4	n.t.	n.t.	n.t.	6.2	(—)
12B12	0.77	33	13	3.2	13	n.t.	4.2	(—)
15B7	6.4	180	160	15	140	n.t.	22	(—)
4H11	(—)	87	810	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
41B10	5.3	(—)	(—)	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
8B11	100	100	240	50	230	n.t.	n.t.	n.t.
38B1	3.9	(—)	910	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
15E6	1.7	1.6	1.1	1.4	2.0	0.18	(—)	n.t.
15E6FK	1.2	0.18	0.22	2.8	0.04	0.08	(—)	n.t.
4B11	29	680	810	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.

92

Secreción de IL-6 por fibroblastos humanos IL-17-estimulados

Células fibroblastos de piel de pliegue humanas (HFFF2, ECACC No 86031405) fueron sembradas en placas de 96 pocillos en DMEM + Glutamina + 10% Suero Fetal Bovino (FBS) y cultivadas durante 24 h antes de la adición de huIL-17A o cyIL-17A (25 ng/ml, 0.75 nM). En ensayos para la actividad de neutralización de MAb, la IL-17A fue pre-incubada con el anticuerpo durante 1 hora antes de añadirla a las células. Luego de 24 horas de estimulación, se recolectaron los sobrenadantes y se midió la concentración de IL-6 humana mediante emparejado ELISA, utilizando un anticuerpo IL6 anti humano (Endogen cat No M620) para captura y un anticuerpo IL6 anti humano biotinilado (Endogen M621B) + estreptavidina HRP (Jackson ImmunoResearch 016-030-084) para detección. La Tabla 7 resume los valores IC₅₀ obtenidos a partir de las curvas de calibración de IL-6 empleando técnicas estadísticas estándar.

Tabla 7: valores IC₅₀ para la inhibición de homodímeros de IL-17A humanos y de cinomolgo obtenidos con anticuerpos huIL-17F de reactividad cruzada; n.t., no probado; (—) no se observó inhibición o IC₅₀ no se pudo determinar (IC₅₀>1 µM)

especie	humano	cinomolgo
Dímero IL-17:	IL-17A	
IL-17 conc.	25 ng/ml	25 ng/ml
clone name	IC ₅₀ (nM)	
30D12	4.2	6.6
30D12 BF	3.0	5.7
29D8	36	n.t.
39F12	14	15
39F12A	21	20
4H11	108	n.t.
15E6	3.9	4.5
15E6FK	0.83	0.76
4B11	(—)	n.t.

EJEMPLO 8. Caracterización de Epítomos

El anticuerpo 15E6FK se une a la IL-17A humana (No. de Acceso Q16552) y a la IL-17A de cinomolgo (NCBI No. de Acceso XP_001106391) pero no a la IL-17A de rata (No. de Acceso Q61453) o a la IL-17A de ratón (No. de Acceso Q62386). El anticuerpo 15E6FK también se une a la IL-17F humana (No. de Acceso Q96PD4), a la IL-17F de cinomolgo (NCBI No. de Acceso XP_001106517), a la IL-17F de rata (No. de Acceso Q5BJ95), y a la IL-17F de ratón (No. de Acceso Q8K4C3).

Con base en estas observaciones, se llevó a cabo una mutagénesis orientada a fin de encontrar residuos de aminoácido, críticos para unirse a citoquinas humanas y de

cinomolgo. La mutagénesis se limitó a residuos que son comunes entre la IL-17A humana y la de cinomolgo pero que son diferentes en la IL-17A de ratón y la de rata.

Para estos experimentos, residuos específicos en la IL-17A humana (21T, 27N, 28I, 32N, 52N, 70K, 74L, 75G, 91P, 100R, 108N, 109S, 126P, 125T, 126P, 129H, 130H, 131V, y 132A) o racimos de residuos (LG, residuos 74-75; NSFRL, residuos 108 a 112 o PIVH, residuos 126 a 129) fueron sustituidos con aminoácidos encontrados en la posición correspondiente en la secuencia de la IL-17A de ratón, y las citoquinas mutantes resultantes fueron expresadas en células de mamífero como se describió en el Ejemplo 1.

La unión de 15E6FK a las citoquinas mutantes fue determinada mediante emparejado ELISA, utilizando anticuerpo policlonal IL-17A anti humano de conejo (R&D Systems, cat # 500-P07) para la captura de la citoquina y usando 15E6FK con anticuerpo IgG kappa-HRP anti humano para detección. L74Q y G75R fueron las únicas dos sustituciones de aminoácido que afectaron la unión de 15E6: L74Q redujo la unión de 15E6FK en más del 70%, mientras que la mutación puntual G75R o la doble mutación LG a QR abolió totalmente la unión. Ninguna de las otras sustituciones simples o múltiples de aminoácidos afectó la unión de 15E6FK a hIL-17A.

La importancia de estos dos residuos para la unión de 15E6FK fue adicionalmente confirmada mutando los correspondientes residuos en IL-17F humana (L75S y G76R) seguido por un hIL-17F emparejado ELISA usando anticuerpo policlonal IL-17F anti humano de conejo para la captura (R&D Systems, cat # 500-P90). En forma similar a lo observado con hIL-17A:

- 1) la sustitución de L75S en la secuencia de la IL-17F humana redujo la unión de 15E6FK,
- 2) la sustitución de G76R abolió completamente la unión de 15E6FK
- 3) ninguna de las otras simples o múltiples mutaciones de aminoácido en hIL-17F (residuos 92P, 109V, 110S, 126T, 127P, 131H, 126-131TPVIHH) afectó la unión de 15E6FK.

En conclusión, el residuo G75 de la IL-17A humana (G76 en IL-17F humana) es absolutamente necesario para la unión de 15E6FK, y el residuo adyacente L74 (L75 en la IL-17F humana) desempeña un papel menor. Estos dos residuos forman así una parte esencial del epítipo reconocido por mAb 15E6FK.

EJEMPLO 9 Experimentos de interferencia de unión.

Para evaluar si dos anticuerpos diferentes se pueden unir simultáneamente a hIL-17F o hIL-17A, se llevaron a cabo una serie de experimentos de interferencia de unión mediante FLISA (Ensayo de Inmunosorbencia ligado a Fluorescencia). Para estos experimentos, cuatro anticuerpos fueron probados para interferencia de unión (competencia de unión): 15E6, 29D8, 30D12, y 39F12. Estos cuatro anticuerpos fueron ya sea etiquetados con conjugado colorante fluorescente (FMAT Blue, Applied Biosystems) para detección de la unión, o se usaron sin etiqueta como competidores.

Para estos experimentos, se distribuyeron microperlas recubiertas con hull-17F o hull-17A en placas ópticas de 384 pocillos FMAT® (Applied Biosystems) y fueron preincubadas con concentraciones crecientes de anticuerpo competidor, no etiquetado, durante 24 horas (0.1 µg/ml a 60 µg/ml; es decir, 2- a 1200-veces en exceso sobre el anticuerpo de detección). Luego de la preincubación con el competidor, el anticuerpo de detección etiquetado por fluorescencia se añadió a una concentración final de 50 ng/ml, y se continuó la incubación. Se midió la fluorescencia de las perlas a diferentes puntos en el tiempo (1 a 24 horas luego de la adición al anticuerpo de detección) usando el 8200 Cellular Detection System Analyzer (Applied Biosystems).

Los anticuerpos que reconocen al mismo epítipo o a un epítipo que se traslapa compitieron por la unión y no pudieron unirse simultáneamente al antígeno. En este caso, las altas concentraciones del anticuerpo competidor resultaron en la total extinción de la fluorescencia de las perlas. En contraste, los anticuerpos que reconocen a los epítopos separados espacialmente, que no se yuxtaponen, no interfirieron con cada uno de los otros y pudieron unirse simultáneamente (el anticuerpo competidor no afectó la fluorescencia de las perlas. De manera alternativa, se pudo observar una interferencia parcial de unión como consecuencia del impedimento estérico entre dos anticuerpos que se unen en estrecha proximidad a dos epítopos vecinos (el anticuerpo competidor disminuyó la fluorescencia de las perlas pero solo parcialmente, aun a las más altas concentraciones). Sobre la base de estos experimentos de interferencia de unión, cuatro anticuerpos fueron asignados a tres familias o "compartimentos epítipo":

- 1) 15E6 y 29D8
- 2) 30D12
- 3) 39F12

La unión de 15E6 o 29D8 (compartimento 1) interfirió parcialmente con la unión de 30D12 (compartimento 2). Por el contrario, la unión de 39F12 (compartimento 3) no interfirió con la unión de los otros tres anticuerpos (compartimentos 1 y 2). Por lo tanto, el epítipo unido por 39F12 está espacialmente separado de los epítopos unidos por 15E6, 29D8, o 30D12.

95

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo monoclonal totalmente humano aislado que se une al homodímero de IL-17A, al homodímero de IL-17F y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, en donde el anticuerpo exhibe (i) una afinidad de unión de por lo menos 100 pM o menos contra el homodímero de IL-17A, (ii) una afinidad de unión de por lo menos 300 pM o menos contra el homodímero de IL-17F, (iii) una afinidad de unión de por lo menos 400 pM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F, (iv) una capacidad de neutralización de por lo menos 13 nM o menos contra el homodímero de IL-17A, (v) una capacidad de neutralización de por lo menos 120 nM o menos contra el homodímero de IL-17F, y (vi) una capacidad de neutralización de por lo menos 31 nM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.
2. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo exhibe (i) una afinidad de unión de por lo menos 40 pM o menos contra el homodímero de IL-17A, (ii) una afinidad de unión de por lo menos 10 pM o menos contra el homodímero de IL-17F, y (iii) una afinidad de unión de por lo menos 50 pM o menos contra el heterodímero de IL-17A/IL-17F.
3. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo exhibe (i) una afinidad de unión de por lo menos 15 pM o menos contra el homodímero de IL-17A, (ii) una afinidad de unión de por lo menos 10 pM o menos contra el homodímero de IL-17F, y (iii) una afinidad de unión de por lo menos 30 pM o menos contra el heterodímero de IL-17A/IL-17F.
4. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo exhibe, (iv) una capacidad de neutralización de por lo menos 13 nM o menos contra el homodímero de IL-17A, (v) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.9 nM o menos contra el homodímero de IL-17F, y (vi) una capacidad de neutralización de por lo menos 11 nM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.
5. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo exhibe, (iv) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.6 nM o menos contra el homodímero de IL-17A, (v) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.7 nM o menos contra el homodímero de IL-17F, y (vi) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.1 nM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.
6. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo exhibe, (iv) una capacidad de neutralización de por lo menos 0.2 nM o menos contra el homodímero de IL-17A, (v) una capacidad de neutralización de por lo menos 1.2 nM o menos contra el

homodímero de IL-17F, y (vi) una capacidad de neutralización de por lo menos 0.2 nM o menos contra el complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.

7. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo es 15E6 y comprende una secuencia VH CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 85, una secuencia VH CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 86, una secuencia VH CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 87, una secuencia VL CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 110, una secuencia VL CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 97 y una secuencia VL CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 111.

8. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo es 15E6FK y comprende una secuencia VH CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 85, una secuencia VH CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 94, una secuencia VH CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 95, una secuencia VL CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 110, una secuencia VL CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 97 y una secuencia VL CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 111.

9. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo se une al mismo epítipo que el anticuerpo 15E6.

10. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo se une al mismo epítipo que el anticuerpo 15E6FK.

11. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo se une a la IL-17A, IL-17F y al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F y previene que uno o más de la IL-17F, IL-17A o el complejo heterodimérico IL-17A/IL-17F se unan con su receptor.

12. Un anticuerpo monoclonal totalmente humano aislado, o fragmento del mismo, en donde dicho anticuerpo comprende:

- (a) una región V_H CDR1 que comprende las secuencias de aminoácidos de las ID SEC NO: 57, 60, 66, 69, 76, 79, 82, o 85;
- (b) una región V_H CDR2 que comprende las secuencias de aminoácidos de las ID SEC NO: 58, 61, 63, 65, 67, 70, 72, 74, 77, 80, 83, 86, 93 o 94;
- (c) una región V_H CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las ID SEC NO: 59, 62, 64, 68, 71, 73, 75, 78, 81, 84, 87, o 95;
- (d) una región V_L CDR1 que comprende las secuencias de aminoácidos de las ID SEC NO: 96, 101, 104, 107 o 110;

92

- (e) una región V_L CDR2 que comprende las secuencias de aminoácidos de las ID SEC NO: 97, 102, 105 o 108; y
- (f) una región V_L CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las ID SEC NO: 98, 99, 100, 103, 106, 109, o 111,

en donde dicho anticuerpo se une a la IL-17F y a la IL-17A.

13. El anticuerpo de la reivindicación 12, en donde dicho anticuerpo se une también al complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F.

14. El anticuerpo de la reivindicación 12, en donde dicho anticuerpo es un isotipo IgG.

15. El anticuerpo de la reivindicación 12, en donde dicho anticuerpo es un isotipo IgG1.

16. El anticuerpo de la reivindicación 12, en donde dicho anticuerpo comprende una secuencia variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir de las ID SEC NO: 2, 6, 8, 10, 14, 18, 20, 24, 28, 32, 34, 38, 52 y 54.

17. El anticuerpo de la reivindicación 12, en donde dicho anticuerpo comprende además una secuencia variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada a partir de las ID SEC NO: 4, 12, 16, 22, 26, 30, 36, 40 y 56.

18. Un anticuerpo monoclonal totalmente humano aislado que comprende una secuencia variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de las ID SEC NO: 2, 6, 8, 10, 14, 18, 20, 24, 28, 32, 38, 52, o 54, y una secuencia variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de las ID SEC NO: 4, 12, 16, 22, 26, 30, 36, 40, o 56, en donde dicho anticuerpo se une a la IL-17F y a la IL-17A.

19. El anticuerpo de la reivindicación 18, en donde dicho anticuerpo es un isotipo IgG.

20. El anticuerpo de la reivindicación 18, en donde dicho anticuerpo es un isotipo IgG1.

21. Un anticuerpo monoclonal totalmente humano aislado, o fragmento del mismo, en donde dicho anticuerpo comprende:

- (a) una región V_H CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de las ID SEC NO: 85 o 90;
- (b) una región V_H CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de las ID SEC NO: 88 o 91;
- (c) una región V_H CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las ID SEC NO: 89 o 92;

- (d) una región V_L CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de las ID SEC NO: 101 o 107;
- (e) una región V_L CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de las ID SEC NO: 102 o 108; y
- 5 (f) una región V_L CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las ID SEC NO: 112 o 113,
- en donde dicho anticuerpo se une a la IL-17F.

22. El anticuerpo de la reivindicación 21, en donde dicho anticuerpo no se une a la IL-17A o al homodímero de IL-17A.

23. El anticuerpo de la reivindicación 21, en donde dicho anticuerpo es un isotipo IgG.

24. El anticuerpo de la reivindicación 21, en donde dicho anticuerpo comprende una secuencia variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir de las ID SEC NO: 44 y 48.

25. El anticuerpo de la reivindicación 21, en donde dicho anticuerpo comprende además una secuencia variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la ID SEC NO: 46 y 50.

26. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones precedentes y un vehículo.

27. Un método de aliviar un síntoma de una indicación clínica asociada con artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, psoriasis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica de esclerosis múltiple o asma en un sujeto, comprendiendo dicho método la administración de un antagonista del complejo heterodimérico de IL-17A/IL-17F a un sujeto que lo requiere, en una cantidad suficiente para aliviar el síntoma de la indicación clínica asociada con artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, psoriasis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica de esclerosis múltiple o asma.

28. El método de la reivindicación 27, en donde dicho sujeto es un humano.

29. El método de la reivindicación 27, en donde dicho antagonista es un anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo.

30. El método de la reivindicación 29, en donde dicho anticuerpo monoclonal es un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 o fragmento del mismo.

31. Un método de aliviar un síntoma de una enfermedad autoinmune, trastorno inflamatorio o trastorno de proliferación celular, en donde el método comprende la administración de un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25 a un sujeto que lo requiere, en una cantidad suficiente para aliviar el síntoma de la enfermedad autoinmune, trastorno inflamatorio o trastorno de proliferación celular en el sujeto.

32. El método de la reivindicación 31, en donde dicho sujeto es un humano.

Resumen

Esta invención proporciona anticuerpos monoclonales totalmente humanos que reconocen a la IL-17F, al homodímero de IL-17F, a la IL-17A, al homodímero de IL-17A, y/o al complejo de proteína heterodimérico de IL-17A/IL-17F. La invención proporciona además métodos para utilizar dichos anticuerpos monoclonales como un agente terapéutico, de diagnóstico y profiláctico.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> NovImmune SA
 Masternak, Krzysztof
 Leger, Olivier

<120> Anticuerpos de Reactividad Cruzada Anti-IL-17A/IL-17F y
 Métodos de Uso de los Mismos

<130> 23135-415001WO

<140> IB2009/005796

<141> 2009-05-05

<150> US 61/126465

<151> 2008-05-05

<150> US 61/098369

<151> 2008-09-26

<160> 115

<170> Patente En versión 3.5

<210> 1

<211> 378

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 1

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc
 60

tcttgcaagg cttctggata caccttcacc agttatgata tcaactgggt gcgacaggcc
 120

actggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atgaaccctg acagtgggtg catacgttat
 180

gcacagaagt tccagggtag agtcaccatg accaggaaca cctccataag cacagcctac
 240

atggagctaa acagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagaatgg
 300

ttcggggagt taccctctta ctacttctac tccggtatgg acgtctgggg ccaagggacc
 360

acggtcaccg
 378

tctcctca

<210> 2

<211> 126

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

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

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

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Met Asn Pro Asp Ser Gly Val Ile Arg Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Trp Phe Gly Glu Leu Pro Ser Tyr Tyr Phe Tyr Ser Gly
100 105 110

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

<210> 3
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 3
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct
120

ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc
180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct
240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggctcccac ttctggccct
300

gggaccaaag tggatatcaa a
321

<210> 4
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105

<210> 5

<211> 369

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 5

caggttcagc tggcgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc
 60

tcctgcaagg cttttgctta caccttttcc acctatggta tcagctgggt gcgacaggcc
 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatagtaa cacaaactat
 180

gcacagaaag tccagggcag aatcaccatg accacagaca catccacgcg cacagcctac
 240

atggagctga ggggcctgag atctgacgac acggccgtgt atttctgtgc gactttcttc
 300

ggtggtcact ctggctacca ctacgggttg gacgtctggg gccaggggac cacggtcacc
 360

gtctcctca
 369

<210> 6

<211> 123

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Ala Tyr Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

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

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

Gln Gly Arg Ile Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Arg Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Thr Phe Phe Gly Gly His Ser Gly Tyr His Tyr Gly Leu Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 7
<211> 369
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 7
caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt
60

tcctgcaagg cttctgttta cacctttacc acttatggta tcagctgggt gcgacaggcc
120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgttt acaatggtaa tacaaactat
180

ggacagaatt tccagggcag agtcagcatg accacagaca catccacgag cacagcctac
240

atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagtttccac
300

ggtggtcact ctggctacca ctacggtttg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc
360

gtctcctca
369

<210> 8
<211> 123
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Val Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Ser Val Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Gly Gln Asn Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Ser Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Phe His Gly Gly His Ser Gly Tyr His Tyr Gly Leu Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 9
<211> 369
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 9
caggtgcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc
60

tcctgcaagg cttctgttta cacctttacc acctatggta tcagttgggt gcgacaggcc
120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcacggttt acaatggtaa cacaaactat
180

gcacagaagt tccacggcag agtcaccatg accacagaca catccacaag tacagcctac
240

atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtct attactgtgc gagtttccac
300

ggtggtcatt ctggctacca ctacggtttg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc
360

gtctcctca
369

<210> 10
<211> 123
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Val Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Thr Val Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

His Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Phe His Gly Gly His Ser Gly Tyr His Tyr Gly Leu Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 11
<211> 324
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<221> otras características
<222> (15)..(15)
<223> n e s a, c, g, o r t

<220>
<221> otras características
<222> (144)..(144)
<223> n e s a, c, g, o r t

<400> 11
gaaattgtgt tgacncagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

ctctcctgca gggccagtca gagtggttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct
120

ggccaggctc ccaggctcct catntatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc
180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct
240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcctccgta cacttttggc
300

caggggacca agctggagat caaa
324

<210> 12
<211> 108
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>
<221> otras características
<222> (5)..(5)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
<221> otras características
<222> (48)..(48)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural
<400> 12

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

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

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

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

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

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

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

<210> 13
<211> 363
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 13
cagctgcagt tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc
60

acctgcgctg tctctgatga ctacatcagc agtaggagtt actactgggg ctggatccgc
120

cagcccccag ggaaggggct ggagtggatt gggagtatct attatagtgg gagcacctac
180

tacaaccgt ccctcaagag tcgagtcacc atatccgtag acacgtccaa gaaccagttc
240

tccctgaaag tgagttctgt gaccgccaca gacacggctg tgtattactg tgcgagagtc
300

agtggctgga acgggaactg gttcgacccc tggggccagg gaaccctggt cacggtctcc
360

tca
363

<210> 14
<211> 121
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

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

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

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

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Thr Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Val Ser Gly Trp Asn Gly Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 15
<211> 324
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 15
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca
180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
240

cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gtcaccgat caccttcggc
300

caagggacac 324 gactggagat taaa

<210> 16
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 16

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 17
 <211> 381
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 17
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc
 60
 tcctgcaagg cttctggagg caccctcagc agctatgctt tcagctgggt gcgacaggcc
 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatccctt tctttggaac aacaaattac
 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcataatt accgcggacg aatccacgaa cacagcctac
 240
 atggagctga gcggcctgag atctgaggac acggccgtgt attattgtgc gagagacagg
 300
 gattactatg gtttggggag tcccttctac tactacggtg tggacgtctg gggccaaggg
 360
 accacggtca ccgtctcctc a
 381

<210> 18
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 18

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

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

Ala Phe Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Ile Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Arg Asp Tyr Tyr Gly Leu Gly Ser Pro Phe Tyr Tyr Tyr
 100 105 110

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

<210> 19
 <211> 381
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 19

cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggctc
 60

tcctgcaagg cttctggagg caccctcagc agctatgctt tcagctgggt gcgacaggcc
 120

cctggacaag gccttgagtg gatgggaggg atcatccctt tctttggaac agtaaaactac
 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatccacgaa cactgcctat
 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagacagg
 300

gattattatg gtttggggag tcccctccac tactacggtt tggacgtctg gggccaaggg
 360

accacggtca
381

ccgtctctc

a

```
<210> 20
<211> 127
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

<400> 20

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

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

Ala Phe Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Arg Asp Tyr Tyr Gly Leu Gly Ser Pro Leu His Tyr Tyr
100 105 110

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

```
<210> 21
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens
```

<400> 21

gaaattgtgt tgacacagtc tccagacttt cagtctgtga ctccaaagga gaaagtcacc
60

atcacctgcc gggccagtca gagcattggt agtagcttac actggtacca gcagaaacca
120

gatcagtctc caaagctcct catcaagtat gcttcccagt ccttctcagg ggtcccctcg
180

aggttcagtg gcagtggtac tgggacagat ttcacctca ccatcaatag cctggaagct
240

gaagatgctg cagcgtatta ctgtcatcag agtagtagtt taccgtggac gttcggccaa
300

gggaccaagg
321

tggaatcaa

a

```
<210> 22
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

<400> 22

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

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

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

```
<210> 23
<211> 375
<212> ADN
<213> Homo sapiens
```

<400> 23
gaggtgcagc ttggtggagtc cggggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgaaactc
60

tctctgtgcag cctctggggt caccttcagt ggctcttcta tgcactgggt ccgccaggct
120

tccgggaaag ggctggactg ggttggccgt attagaagca aagctaacag ttacgcgaca
180

gcataatgctg cgtcggtgat aggcagggttc accatctcca gagatgattc aaagaacacg
240

gcgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacgg ccgtgtatta ctgtactaca
300

tca**gtgg**cta ctacc**ct**tac tgactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg
360

gtcaccgtctcctca

113

<210> 24
<211> 125
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 24

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

<210> 25
<211> 324
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 25

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct
120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc
180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct
240
gaagattttg cagtttatta ctgtcaacag cgtagcaact ggcctccatt cactttcggc
300
cctgggacca aagtgatat caaa
324

<210> 26
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 26

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

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

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

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

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

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

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105

<210> 27
 <211> 357
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 27

gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacacc ctgggggggtc cctgagactc
 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctttaaca tggactgggt ccgccaggct
 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatcc attagtacta ctagcagaat catatactct
 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaggaa ctcaactgtat
 240

ctgcaaatga acagcctgag agacgaggac acggctgtat attactgtgc gagagtcagt
 300

tactatggcc acggatttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca
 357

<210> 28
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 28

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

<210> 29
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 29
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc
60
atcacttgtc gggcgagtc ggggtattagc agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca
120
gagaaagccc ctaagtcctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca
180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct
240
gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt accctctcac ttctggcgga
300
gggaccaagg tggagatcaa a
321

<210> 30
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 31

<211> 381

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 31

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc
60

tcctgcaagg cttctggagg caccctcagc agctatgctt tcagctgggt gcgacaggcc
120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggagga atcatccctt tctttggaac agcacactac
180

gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatccacgaa cacagcctac
240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtat attactgtgc gagagatagg
300

gactactatg gttcggggag tcccttccac ttctccggtt tggacgtctg gggccaaggg
360

accacggtca
381

ccgtctcctc

a

<210> 32

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

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

<210> 33
 <211> 369
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 33
 gaagtacagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc
 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattttgccca tgcactgggt ccggcaagct
 120
 ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attaattgga atagtggtag cataggctat
 180
 gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat
 240
 ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggccttgt attactgtgc aaaagatata
 300
 gcagcagctg gtgaattcta cttcgatatg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc
 360
 gtctcctca
 369

<210> 34
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 34

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Ile Ala Ala Ala Gly Glu Phe Tyr Phe Asp Met Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 35
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 35
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct
120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc
180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct
240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcctccgac ttttggccag
300
gggaccaagc tggagatcaa a
321

<210> 36
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

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

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

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

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

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

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

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

<210> 37
<211> 369
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 37
gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgccca tgcactgggt ccggcaagct
120

ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attaattgga atagtgggtg cataggctat
180

gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat
240

ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aagagatatg
300

gggggggttcg gggagtttta ctggaacttc ggtctctggg gccgtggcac cctggtcact
360

gtctcctca
369

<210> 38
<211> 123
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Met Gly Gly Phe Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Phe Gly Leu
100 105 110

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 39
<211> 324
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 39
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60
ctctcctgca gggccagtca gagggttaga agctacttag cctggtacca acagaaacct
120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc
180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct
240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcctccggc cactttcggc
300
ggagggacca aggtggagat caaa
324

<210> 40
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 40
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 41
 <400> 41
 000

<210> 42
 <400> 42
 000

<210> 43
 <211> 375
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 43
 caggtgcagc tgggtgcagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc
 60

tctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct
 120

ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtgggtac cataggctat
 180

gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat
 240

ctgcaaataga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aaaagaactg
 300

tatatcagtg actgggactc ctactcctac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg
 360

gtcaccgtct cctca
 375

<210> 44
 <211> 125
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Glu Leu Tyr Ile Ser Asp Trp Asp Ser Tyr Ser Tyr Gly Met
100 105 110

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

<210> 45

<211> 318

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 45

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc
60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa
120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca
180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag
240

cctgaagatt ttgcagtga ttactgtcag cagtatggta gctcaccttt cggcggaggg
300

accaaggtgg
318

agatcaaa

<210> 46

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 47

<211> 372

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 47

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggttaaagc ctgggggggtc ccttagactc
60

tcctgtgcag cctctggatt cacttttcagt aacgcctgga tgagctgggt ccgccaggct
120

ccagggaagg ggctggaatg ggttggccgt attaaaagca aaactgatgg tgggacaaca
180

gactacgttg caccctgtaa aggcagattc accatctcaa gagatgattc aaaaaacacc
240

ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacag ccgtatatta ctgtaccaca
300

tcgtatagca gttactgggt cccctactac ttgactact ggggccaggg aaccctggtc
360

accgtctcct
372

ca

<210> 48

<211> 124

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

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

<210> 49
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 49
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc
60
atcacttgtc gggcgagtca ggggtattagc agctgggtag cctgggtatca gcagaaacca
120
gagaaagccc ctaagtcctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca
180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct
240
gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccgatcac cttcggccaa
300
gggacacgac tggagattaa a
321

<210> 50
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 50

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 51
<211> 378
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 51
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc
60

tcttgcaagg cttctggata caccttcacc agttatgata tcaactgggt gcgacaggcc
120

actggacaag ggcttgagtg gatgggatgg ctgaaccctg acagtgggtg catacgttat
180

gcacagaagt tccagggtag agtcaccatg accagggaca cctccataag cacagcctac
240

atggagctaa gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagaatgg
300

ttcggggagt taccctctta ctacttctac tccggtatgg acgtctgggg ccaagggacc
360

acggtcacccg tctcctca
378

<210> 52
<211> 126
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 52

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

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

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Leu Asn Pro Asp Ser Gly Val Ile Arg Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Trp Phe Gly Glu Leu Pro Ser Tyr Tyr Phe Tyr Ser Gly
100 105 110

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

<210> 53
<211> 369
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 53
gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct
120

ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attaattgga gcagtgggtg cataggctat
180

gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat
240

ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aagagatatc
300

gggggggttcg gggagtttta ctggaacttc ggtctctggg gccgtggcac cctggtcact
360

gtctcctca
369

<210> 54
<211> 123
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 54

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Ile Gly Gly Phe Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Phe Gly Leu
100 105 110

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 55
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 55
gaaattgtgt tgacacagtc tccagacttt cagtctgtga ctccaaagga gaaagtcacc
60

atcacctgcc gggccagtca gagcattgggt agtagcttac actggtacca gcagaaacca
120

gatcagtctc caaagctcct catcaagtat gcttcccagt ctttctcagg ggtcccctcg
180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcaccctca ccatcaatag cctggaagct
240

gaagatgctg caacgtatta ctgtcatcag agtagtagtt taccgtggac gttcggccaa
300

gggaccaagg tggaaatcaa a
321

<210> 56
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 56

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys

```

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

```

```
<210> 57
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

<400> 57

Ser Tyr Asp Ile Asn
1 5

```
<210> 58
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

<400> 58

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

Gly

```
<210> 59
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

<400> 59

Glu Trp Phe Gly Glu Leu Pro Ser Tyr Tyr Phe Tyr Ser Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<400> 70

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

Gly

<210> 71

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Asp	Arg	Asp	Tyr	Tyr	Gly	Leu	Gly	Ser	Pro	Phe	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Met
1				5					10					15	

Asp Val

<210> 72

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

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

Gly

<210> 73

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

Asp	Arg	Asp	Tyr	Tyr	Gly	Leu	Gly	Ser	Pro	Leu	His	Tyr	Tyr	Gly	Leu
1				5					10					15	

Asp Val

<210> 74

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

Gly	Ile	Ile	Pro	Phe	Phe	Gly	Thr	Ala	His	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

<210> 85
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 85

Asp Tyr Ala Met His
1 5

<210> 86
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 86

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

Gly

<210> 87
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 87

Asp Met Gly Gly Phe Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Phe Gly Leu
1 5 10

<210> 88
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 88

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

Gly

<210> 89
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 89

Glu Leu Tyr Ile Ser Asp Trp Asp Ser Tyr Ser Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 90

<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 90

Asn Ala Trp Met Ser
1 5

<210> 91
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 91

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

Val Lys Gly

<210> 92
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 92

Ser Tyr Ser Ser Tyr Trp Phe Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 93
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 93

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

Gly

<210> 94
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 94

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

Gly

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
1 5

<210> 113
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 113

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Ile Thr
1 5

<210> 114
<211> 38
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> sintetizada químicamente

<400> 114

Met Leu Leu Val Asn Gln Ser His Gln Gly Phe Asn Lys Glu His Thr
1 5 10 15

Ser Lys Met Val Ser Ala Ile Val Leu Tyr Val Leu Leu Ala Ala Ala
20 25 30

Ala His Ser Ala Phe Ala
35

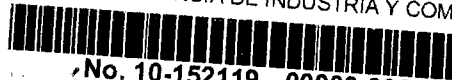
<210> 115
<211> 18
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> sintetizada químicamente

<400> 115

Met Pro Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu
1 5 10 15

Ala Met Asp



No. 10-152119-00000-0000

Fecha: 2010-12-02 15:53:45

Tra. 11 PATENTE IYII

Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR. NUEVAS CR

Eve: 378 FASE NACIONAL I

Folios: 139

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIL

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☒	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☒	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	incompleta ☐



Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
CADENA SARMIENTO JUAN PABLO
Apoderado(a) y/o Representante de
NOVIMMUNE S.A

REFERENCIA	Radicación No.	10 152119
	Solicitud internacional	PCT/IB2009/005796
	Fecha inicio fase nacional	19/04/2011
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	

07750

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.

JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

13 MAYO 2011

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____.
adpa11