



No. 12-068924- -00000-0000

Fecha: 2012-04-26 16:02:40 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 221

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE N° _____

54. TÍTULO PROTEÍNAS DE ENLACE AL ANTÍGENO IL-23 HUMANAS.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL C07K 16/24

71. SOLICITANTE AMGEN INC.

DOMICILIO Thousand Oaks, California, Estados Unidos de América

74. APODERADO DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

22. BOGOTÁ, D.C. _____

**FORMULARIO 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
(71)**

Nombre: **AMGEN INC.**

Dirección: One* Amgen Center Drive,
Thousand Oaks, California 91320, Estados
Unidos de América.

Nacionalidad o domicilio: Thousand Oaks,
California, Estados Unidos de América

Lugar de Constitución: California, Estados
Unidos de América

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)**

Nombre: DILIA MARÍA RODRÍGUEZ
D'ALEMAN

Dirección: Carrera 11 No. 86-53, piso 6

Teléfono: 6 181088 **Fax:** 6350824

E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Número 41.654.882
TP 20824 CSJ

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: **VER HOJA ANEXA**

Dirección:

Nacionalidad o domicilio:

5 **PCT (86)**

Solicitud Internacional No. PCT/US2010/054148 Fecha 26 de octubre de 2010

Publicación Internacional No. WO 2011/056600 A1 Fecha 12 de mayo de 2011

6 **TÍTULO (54)** PROTEÍNAS DE ENLACE AL ANTÍGENO IL-23 HUMANAS.

7 **Clasificación Internacional (51)** C07K 16/24

8 **Prioridad**

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen
Estados Unidos de América
Estados Unidos de América

(32) Fecha
26 de Octubre de 2009
09 de Septiembre de 2010

(31) Número de Solicitud
61/254.982
61/381.287

9 **Comprobante de pago** No. 12-40418 // 12-40418

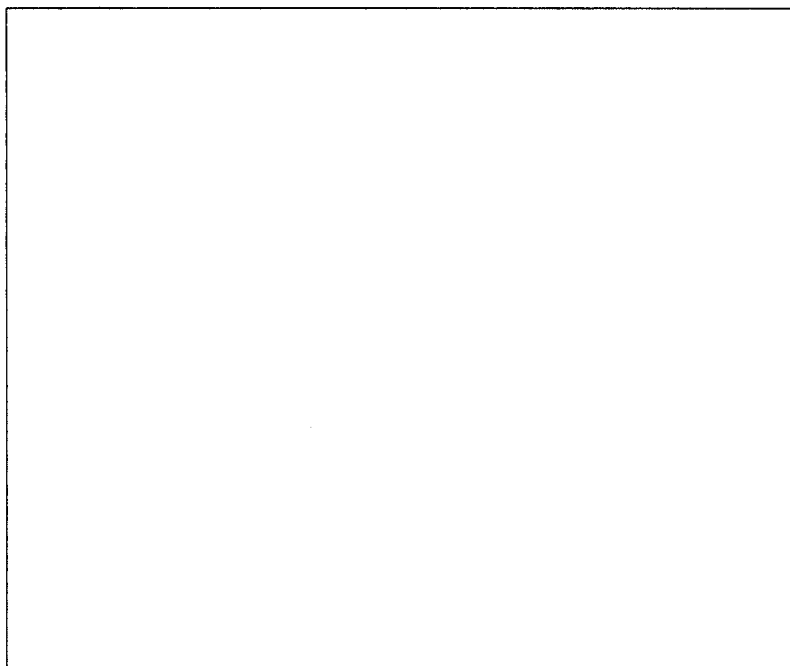
Fecha 25 de abril de 2012

10

ANEXOS

- ☐ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones Regla 4.17
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ 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 del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de 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 deposito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12 .
- ☐ 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

11 FIGURA CARACTERÍSTICA



12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE : DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMAN

FIRMA:

C. & 41.654.882

T.P. 20824

ANEXO
INVENTORES

- 1.) **TOWNE, Jennifer, E.**
(2628 NW 97th Street, Seattle, Washington 98117, Estados Unidos de América);
- 2.) **CHENG, Janet, D.**
(310 W. Lee Street, Seattle, Washington 98119, Estados Unidos de América);
- 3.) **O'NEILL Jason C.**
(23023 39th Avenue West, Brier, Washington 98036, Estados Unidos de América);
- 4.) **ZHANG Yu**
(19141 8th Avenue NW, Shoreline, Washington 98177, Estados Unidos de América);
- 5.) **SUN Yu**
(13747 28th Avenue NE, Seattle, Washington 98125, Estados Unidos de América);
- 6.) **CERNE Heather**
(6556 36th Avenue NE, Seattle, Washington 98115, Estados Unidos de América);
- 7.) **PIPER Derek E.**
(675 Giannini Drive, Santa Clara, California 95051, Estados Unidos de América);
- 8.) **KETCHEM Randal R.**
(6332 152nd Street SE, Snohomish, Washington 98296, Estados Unidos de América).

000002

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 12 - 0040418

Bogotá D.C., Abril 25 de 2012 - 10:23:37

RECIBIDO DE : CLARKE MODET NI 830.008.643 RE

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
RECIBO DE CA	999999999	35197	11/04/2012		1.120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	35198	11/04/2012		1.120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	35199	11/04/2012		1.120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	35200	11/04/2012		1.120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	39149	23/04/2012		100.000.00
RECIBO DE CA	999999999	39182	23/04/2012		30.000.00
RECIBO DE CA	999999999	39183	23/04/2012		30.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	590.000.00	590.000.00
			\$590.000.00

SON: **QUINIENTOS NOVENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 12-068924- -00000-0000
Fecha: 2012-04-26 16:02:40 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 221

UUUUU3

P-3309

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 12 - 0040422

Bogotá D.C., Abril 25 de 2012 - 10:23:37

RECIBIDO DE : CLARKE MODET NI 830.008.643 RE

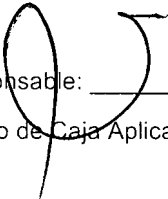
*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
RECIBO DE CA	999999999	35197	11/04/2012		1.120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	35198	11/04/2012		1.120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	35199	11/04/2012		1.120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	35200	11/04/2012		1.120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	39149	23/04/2012		100.000.00
RECIBO DE CA	999999999	39182	23/04/2012		30.000.00
RECIBO DE CA	999999999	39183	23/04/2012		30.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
59 50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INICIALES	30.000.00	1.770.000.00
			\$1.770.000.00

SON: **UN MILL&OACUTE;N SETECIENTOS SETENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: 
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-068924- -00000-0000

Fecha: 2012-04-26 16:02:40 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 221

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Abril 25 de 2012 - 10:23:39

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

Se proporcionan proteínas de enlace al antígeno que enlazan a la proteína IL-23 humano. También se proporcionan ácidos nucleicos que codifican la proteína de enlace al antígeno, 5 vectores, y células que codifican los mismos así como uso de proteínas de enlace al antígeno IL-23 para propósitos de diagnóstico y terapéuticos.

10

15

20

000005

PROTEÍNAS DE ENLACE AL ANTÍGENO IL-23 HUMANAS

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a proteínas de enlace al
5 antígeno que enlazan a la proteína IL-23 humano. También se
proporcionan ácidos nucleicos que codifican la proteína de enlace
al antígeno, vectores, y células que codifican los mismos así
como uso de proteínas de enlace al antígeno IL-23 para propósitos
de diagnóstico y terapéuticos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La interleucina 23 (IL-23), una citoquina heterodimérica, es
un inductor potente de citoquinas pro-inflamatorias. La IL-23
está relacionada con la citoquina heterodimérica Interleucina 12
15 (IL-12) tanto para compartir una subunidad p40 común. En IL-23,
se une covalentemente una subunidad p19 única a la subunidad p40.
En IL-12, la subunidad única es p35 (Oppmann et al., Immunity,
2000, 13: 713-715). Se secreta la proteína heterodimérica IL-23.
Igual que IL-12, IL-23 se expresa por células que presentan
20 antígeno (tal como células dendríticas y macrófagos) en respuesta
a los estímulos de activación tal como ligado CD40, agonistas del
receptor tipo Toll y patógenos. IL-23 une al receptor
heterodimérico que comprende una subunidad IL-12R β 1 (que se
comparte con el receptor IL-12) y una subunidad del receptor
único, IL-23R. El receptor IL-12 consiste de IL-12R β 1 y IL-12R β 2.
La IL-23 une su receptor heterodimérico y señales a través de
JAK2 y Tyk2 para activar STAT1, 3, 4 y 5 (Parham et al., J.
Immunol. 2002, 168:5699-708). Las subunidades del receptor se co-

000006

expresan predominantemente en células T activadas o de memoria y células eliminadoras naturales y también a niveles inferiores en células dendríticas, monocitos, macrófagos, microglia, queratinocitos y fibroblastos sinoviales. La IL-23 e IL-12 actúan
5 en subconjuntos de célula T diferentes y juegan papeles sustancialmente diferentes in vivo.

La IL-23 actúa en células T activadas y de memoria y promueve la supervivencia y expansión del subconjunto de célula T, Th17. Las células Th17 producen citoquinas proinflamatorias
10 que incluyen IL-6, IL-17, TNFa, IL-22 y GM-CSF. La IL-23 también actúa en células eliminadoras naturales, células dendríticas y macrófagos para inducir expresión de citoquina pro-inflamatoria. Al contrario de IL-23, IL-12 induce la diferenciación de células CD4+ T sin experimentar en células efectoras que producen IFN γ , e
15 induce la función de célula T citotóxica y NK al estimular la producción IFN γ . Las células Th1 conducidas por IL-2 se pensaba previamente que era el subconjunto de células T patogénicas en muchas enfermedades autoinmunitarias, sin embargo, estudios animales más recientes en modelos de enfermedad inflamatoria del
20 intestino, psoriasis, artritis inflamatoria y esclerosis múltiple, en los cuales las contribuciones individuales de IL-12 contra IL-23 se evaluaron, han establecido firmemente que IL-23, no IL-12, es el conductor clave en enfermedad autoinmunitaria/inflamatoria (Ahern et al., Immun. Rev. 2008 226:147-159; Cua et al., Nature 2003 421:744-748; Yago et al., Arthritis Res and Ther. 2007 9(5): R96). Se considera que IL-12 juega un papel crítico en el desarrollo de respuestas inmunitarias innatas y adaptativas protectoras para muchos

000007

patógenos y virus intracelulares y en vigilancia inmunitaria del tumor. Ver Kastelein, et al., Annual Review of Immunology, 2007, 25: 221-42; Liu, et al., Rheumatology, 2007, 46(8): 1266-73; Bowman et al., Current Opinion in Infectious Diseases, 2006 5 19:245-52; Fieschi and Casanova, Eur. J. Immunol. 2003 33:1461-4; Meeran et al., Mol. Cancer Ther. 2006 5: 825-32; Langowski et al., Nature 2006 442: 461-5. Como tal, ña inhibición específica de IL-23 (que dosifica IL-12 o comparte la subunidad p40) tendría un perfil de seguridad potencialmente superior comparado con la 10 inhibición doble de IL-12 e IL-23.

Por lo tanto, el uso de antagonistas específicos de IL-23 que inhiben IL-23 humana (tal como anticuerpos que unen al menos la única subunidad p19 o unen ambas de las subunidades p19 y p40 de IL-23) que dosifican IL-12 debieran proporcionar una eficacia 15 igual a o mayor que los antagonistas IL-12 o antagonistas p40 sin los riesgos potenciales asociados con la inhibición de IL-12. Se han descrito anticuerpos que exhiben fago, de murino, humanizados, seleccionados para inhibición de IL-23 recombinante; ver por ejemplo Patentes E.U.A 7,491,391, Publicaciones de la 20 OMPI WO1999/05280, WO2007/0244846, WO2007/027714, WO 2007/076524, WO2007/147019, WO2008/103473, WO2008/103432, WO2009/043933 y WO2009/082624. Sin embargo, hay una necesidad para agentes terapéuticos completamente humanos que sean capaces de inhibir IL-23 humana nativa. Tales terapéuticos son altamente específicos para el objetivo, particularmente in vivo. La inhibición completa del objetivo in vivo puede resultar en formulaciones de dosis inferior, dosificación menos frecuente y/o más efectiva que de nuevo resulta en costos reducidos y eficiencia incrementada. La

000000

presente invención proporciona tales antagonistas IL-23.

SUMARIO DE LA INVENCION

Se proporcionan proteínas de enlace al antígeno que unen IL-
5 23, particularmente IL-23 humana nativa. Las proteínas de enlace
al antígeno IL-23 humanas pueden reducir, inhibir, interferir
con, y/o modular al menos una de las respuestas biológicas
relacionadas con IL-23, y como tales, son útiles para aminorar
los efectos de enfermedades o trastornos relacionados con IL-23.
10 Las proteínas de enlace al antígeno IL-23 pueden usarse, por
ejemplo, para reducir, inhibir, interferir con y/o modular
señalización IL-23, activación IL-23 de células Th17, activación
IL-23 de células NK, o inducir la producción de citoquinas
proinflamatorias.

15 También se proporcionan sistemas de expresión, que incluyen
líneas celulares, para la producción de las proteínas de enlace
al antígeno IL-23 y métodos de diagnóstico y tratamiento de
enfermedades relacionadas con IL-23 humana.

Algunas de las proteínas de enlace al antígeno que unen IL-
20 23 que se proporcionan, comprenden al menos una región variable
de cadena pesada que comprende un CDRH1, un CDRH2 y un CDRH3
seleccionado del grupo que consiste de: un CDRH1 que difiere por
no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido
de un CDRH1 como se muestra en la TABLA 3; un CDRH2 que difiere
por no más de tres, dos o una sustituciones, inserciones y/o
eliminaciones de aminoácidos de un CDRH2 como se muestra en la
TABLA 3; un CDRH3 que difiere por no más de tres, dos o una
sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácidos de un

000003

CDRH3 como se muestra en la TABLA 3; y que comprende al menos una región variable de cadena ligera que comprende un CDRL1, un CDRL2 y un CDRL3 seleccionado del grupo que consiste de: un CDRL1 que difiere por no más de tres, dos o una sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácidos de un CDRL1 como se muestra en la TABLA 3; un CDRL2 que difiere por no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido de un CDRL2 como se muestra en la TABLA 3; un CDRL3 que difiere por no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido de un CDRL3 como se muestra en la TABLA 3. En una modalidad se proporciona proteínas de enlace al antígeno aisladas que comprende: un CDRH1 seleccionado del grupo que consiste de SEQ ID NO: 91, 94, 97, 100, y 103; un CDRH2 seleccionado del grupo que consiste de SEQ ID NO: 92, 95, 98, 101, 104, 107, y 110; un CDRH3 seleccionado del grupo que consiste de SEQ ID NO: 93, 96, 99, 102, y 105; un CDRL1 seleccionado del grupo que consiste de SEQ ID NO: 62, 65, 68, 71, y 74; un CDRL2 seleccionado del grupo que consiste de SEQ ID NO: 63, 66, 69, 72, 75, y 78; y un CDRL3 seleccionado del grupo que consiste de SEQ ID NO: 64, 67, 70 y 73. En otra modalidad se proporciona proteína de enlace al antígeno aislada que comprende: un CDRH1 seleccionado del grupo que consiste de SEQ ID NO: 91, 106, 109, 112, y 115; un CDRH2 seleccionado del grupo que consiste de SEQ ID NO: 113, 116, 118, 120, 121, y 122; un CDRH3 seleccionado del grupo que consiste de SEQ ID NO: 108, 111, 114, 117, y 119; un CDRL1 seleccionado del grupo que consiste de SEQ ID NO: 77, 80, 83, 85, 86, 87, 88, 89 y 90; un CDRL2 es SEQ ID NO: 81; y un CDRL3 seleccionado del grupo que consiste de SEQ ID NO: 76, 79, 82 y 84. En otra modalidad se proporciona una

000010

proteína de enlace al antígeno aislada que comprende al menos una región variable de cadena pesada y al menos una región variable de cadena ligera. Aún en otra modalidad se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada como se describe arriba que comprenden al menos dos regiones variables de cadena pesada y al menos dos regiones variables de cadena ligera. Aún en otra modalidad se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada en donde la proteína de enlace al antígeno se acopla a un grupo etiquetado.

También se proporcionan proteínas de enlace al antígeno aisladas que unen IL-23 seleccionado del grupo que consiste de a) una proteína de enlace al antígeno que tiene CDRH1 de SEQ ID NO:129, CDRH2 de SEQ ID NO:132, CDRH3 de SEQ ID NO:136, and CDRL1 de SEQ ID NO:123, CDRL2 de SEQ ID NO:81, y CDRL3 de SEQ ID NO: 76; b) una proteína de enlace al antígeno que tiene CDRH1 de SEQ ID NO:131, CDRH2 de SEQ ID NO: 134, CDRH3 de SEQ ID NO:137 y CDRL1 de SEQ ID NO:124, CDRL2 de SEQ ID NO:126 y CDRL3 de SEQ ID NO:128; c) a) una proteína de enlace al antígeno que tiene CDRH1 de SEQ ID NO:130, CDRH2 de SEQ ID NO:133, CDRH3 de SEQ ID NO:99 y CDRL1 de SEQ ID NO:68, CDRL2 de SEQ ID NO:69, y CDRL3 de SEQ ID NO:67; y d) una proteína de enlace al antígeno que tiene CDRH1 SEQ ID NO:91, CDRH2 SEQ ID NO: 135, CDRH3 SEQ ID NO:138 y CDRL1 SEQ ID NO:125, CDRL2 SEQ ID NO:127, y CDRL3 SEQ ID NO:64.

También se proporcionan proteínas de enlace al antígeno aisladas que unen IL-23 que comprende al menos una región variable de cadena pesada y al menos una región variable de cadena ligera, seleccionadas del grupo que consiste de: una región variable de cadena pesada que comprende residuos de

000011

aminoácidos 31-35, 50-65 y 99-113 de SEQ ID NO:31; y una región
 variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos
 23-36, 52-58 y 91-101 de SEQ ID NO:1; una región variable de
 cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-35, 50-65
 5 y 99-110 de SEQ ID NO:34 y región variable de cadena pesada que
 comprende residuos de aminoácidos 31-35, 50-66 y 99-110 de SEQ ID
 NO:36; y una región variable de cadena ligera que comprende
 residuos de aminoácidos 23-36, 52-62 y 97-105 de SEQ ID NO:4; una
 región variable de cadena pesada que comprende residuos de
 10 aminoácidos 31-35, 50-66 y 99-114 de SEQ ID NO:38; y una región
 variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos
 23-34, 50-61 y 94-106 de SEQ ID NO:7; una región variable de
 cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-35, 50-66
 y 99-114 de SEQ ID NO:40; y una región variable de cadena ligera
 15 que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 94-106 de
 SEQ ID NO:9; un región variable de cadena pesada que comprende
 residuos de aminoácidos 31-35, 50-66 y 99-114 de SEQ ID NO:42; y
 una región variable de cadena ligera que comprende residuos de
 aminoácidos 23-34, 50-61 y 94-106 de SEQ ID NO:11; un región
 20 variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos
 31-35, 50-65 y 98-107 de SEQ ID NO:44; y una región variable de
 cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56
 y 89-97 de SEQ ID NO: 13; una región variable de cadena pesada
 que comprende residuos de aminoácidos 31-37, 52-67 y 100-109 de
 SEQ ID NO:46 o SEQ ID NO:153; y una región variable de cadena
 ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 89-97
 de SEQ ID NO:15; una región variable de cadena pesada que
 comprende residuos de aminoácidos 31-37, 52-67 y 100-109 de SEQ

000013

ID NO:48; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:17; una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-37, 52-67 y 101-109 de SEQ ID NO:50; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:19; una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-35, 50-65 y 98-107 de SEQ ID NO: 52; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 98-107 de SEQ ID NO:21; una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-37, 52-67 y 100-109 de SEQ ID NO:54; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:23; una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-37, 52-67 y 100-109 de SEQ ID NO:56; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:25; y una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-37, 52-57 y 100-109 de SEQ ID NO:58; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 500-56 y 89-97 de SEQ ID NO:27.

Se proporciona en la presente una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza a IL-23 que comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en donde la secuencia de región variable de cadena pesada difiere por no más de 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 sustituciones, adiciones y/o eliminaciones de aminoácidos a partir de una secuencia de región variable de cadena pesada como

000013

se muestra en la TABLA 2; y en donde la secuencia de región variable de cadena ligera difiere por no más de 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 sustituciones, adiciones y/o eliminaciones de aminoácidos de una secuencia de región variable de cadena ligera como se muestra en la TABLA 1.

También se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza a IL-23 seleccionado del grupo que consiste de a) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:140 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 30; b) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:141 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:61; c) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:142 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:4; y d) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:143 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:139.

También se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácido que tiene al menos 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia a SEQ ID NO:31, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56 y 58; y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácido que tiene al menos 90% de identidad de secuencia a SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25 y 27. En otra modalidad es una proteína de enlace al antígeno aislada que comprende una región variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58 y 153, y una región variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO:13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, y 27.

000014

Aún en otra modalidad es una proteína de enlace al antígeno aislada que comprende una región variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 31, 34, 36, 38, 40 y 42, y una región variable de cadena ligera seleccionado del grupo que consiste de SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9 y 11.

También se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza a IL-23 que comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste de: a) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:31 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:1; b) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:34 o 36 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:4; c) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:38 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 7; d) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:40 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:9; e) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:42 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 11; f) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:44 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:13; g) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:46 o SEQ ID NO:153 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:15; h) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:48 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:17; i) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:50 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 19; j) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:52 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:21; k) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:54 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:23; l) una

000015

región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:56 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:25; y m) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:58 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:27.

5 También se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza a IL-23 humana, en donde el parche cubierto formado cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana comprende contactos de residuo 30, 31, 32, 49, 50, 52, 53, 56, 92 y 94 de SEQ ID NO:15, en donde los contactos de
10 residuo tienen un valor de diferencia mayor que o igual a $10 \text{ \AA}^2$ como se determina por el área superficial expuesta al solvente. Dentro de una modalidad los contactos de residuo comprenden los residuos 31-35, 54, 58-60, 66, y 101-105 de SEQ ID NO:46.

También se proporciona una proteína de enlace al antígeno
15 aislada que enlaza a IL-23 humana, en donde el parche cubierto formado cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana comprende contactos de residuo 31-34, 51, 52, 55, 68, 93 y 98 de SEQ ID NO:1, en donde los contactos de residuo tienen un valor de diferencia mayor que o igual a $10 \text{ \AA}^2$ como se
20 determina por el área superficial expuesta al solvente. Dentro de una modalidad los contactos de residuo comprenden los residuos 1, 26, 28, 31, 32, 52, 53, 59, 76, 101, 102 y 104-108 de SEQ ID NO:31.

También se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza a IL-23 humana, en donde cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana, la proteína de enlace al antígeno es de $5 \text{ \AA}$ o menos a partir de los residuos 32-35, 54, 58-60, 66 y 101-105 de SEQ ID NO:46, como se determina

000016

por cristalografía de rayos X. En una modalidad la proteína de enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de los residuos 31-35, 54, 56, 58-60, 66 y 101-105 de SEQ ID NO:46.

5 También se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza a IL-23 humana, en donde cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana, la proteína de enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de los residuos 30-32, 49, 52, 53, 91-94 y 96 de SEQ ID NO:15, como se determina por cristalografía de rayos X. En una modalidad la proteína de enlace
10 al antígeno es de 5 Å o menos a partir de los residuos 30-32, 49, 50, 52, 53, 56, 91-94 y 96 de SEQ ID NO:15.

También se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza a IL-23 humana, en donde cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana, la proteína de
15 enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de los residuos 26-28, 31, 53, 59, 102 y 104-108 de SEQ ID NO:31, como se determina por cristalografía de rayos X. En una modalidad la proteína de enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de los residuos 1, 26-28, 30-32, 52, 53, 59, 100, y 102-108 de SEQ ID NO:31.

20 También se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza a IL-23 humana, en donde cuando dicha proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana, dicha proteína de enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de los residuos 31-34, 51, 52, 55, 68 y 93 de SEQ ID NO:1 como se determina por cristalografía de rayos X. En una modalidad la proteína de enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de los residuos 29, 31-34, 51, 52, 55, 68, 93 y 100 de SEQ ID NO:1.

También se proporciona una proteína de enlace al antígeno

000017

aislada como se describe arriba, en donde la proteína de enlace al antígeno es un anticuerpo. En una modalidad se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo multiespecífico, o un fragmento de anticuerpo del mismo. En otra modalidad se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada en donde el fragmento de anticuerpo es un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fv, un diacuerpo, o una molécula de anticuerpo de cadena sencilla. Aún en otra modalidad se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada en donde la proteína de enlace al antígeno es un anticuerpo humano. Todavía en otra modalidad se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada en donde la proteína de enlace al antígeno es un anticuerpo monoclonal. En otra modalidad se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada en donde la proteína de enlace al antígeno es del tipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. Aún en otra modalidad se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada en donde la proteína de enlace al antígeno es del tipo IgG1 o IgG2.

Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica una proteína de enlace al antígeno como se describe arriba, también se proporciona. En una modalidad se proporciona una molécula de ácido nucleico aislada en donde al menos una región variable de cadena pesada se codifica por una molécula de ácido nucleico aislada seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NOs:32, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59 y 152 y al menos

000018

una región variable de cadena ligera se codifica por una molécula de ácido nucleico aislada seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NOs:2, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, y 28. En otra modalidad se proporciona una molécula de ácido nucleico en donde la molécula de ácido nucleico se liga operablemente a una secuencia de control. En otra modalidad se proporciona un vector que comprende una molécula de ácido nucleico como se describe arriba. Aún en otra modalidad se proporciona una célula hospedera que comprende la molécula de ácido nucleico como se describe arriba. En otra modalidad se proporciona una célula hospedera que comprende el vector descrito antes. Aún en otra modalidad se proporciona un polinucleótido aislado suficiente para usar como una sonda de hibridización, cebador PCR o cebador de formación de secuencia que es un fragmento de la molécula de ácido nucleico como se describe arriba o su complemento.

También se proporciona un método para hacer la proteína de enlace al antígeno como se describe arriba, que comprende la etapa de preparar dicha proteína de enlace al antígeno a partir de una célula hospedera que secreta dicha proteína de enlace al antígeno.

También se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza a IL-23 humana, en donde el parche cubierto formado cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana comprende un contacto de residuo con los residuos 46-58, un contacto de residuo con los residuos 112-120, y un contacto de residuo con los residuos 155-163 de la subunidad IL-23p19 humana como se describe en SEQ ID NO:145, en donde el contacto de residuo tiene un valor de diferencia mayor que o

igual a $10A^2$ como se determina por el área superficial expuesta al solvente. En una modalidad se proporciona en donde el parche cubierto formado cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana comprende uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce o trece contactos de residuo dentro de los residuos 46-58, uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez contactos de residuo dentro de los residuos 112-120, y uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve contactos de residuo dentro de los residuos 155-163 de la subunidad IL-23p19 humana como se describe en SEQ ID NO:145. En otra modalidad se proporciona en donde el parche cubierto formado cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana comprende un contacto de residuo con los residuos 121-125 de la subunidad IL-23p40 humana como se describe en SEQ ID NO:147. En una modalidad relacionada en donde el parche cubierto formado cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana comprende uno, dos, tres, cuatro o five contactos de residuo dentro de los residuos 121-125 de la subunidad IL-23p40 humana como se describe en SEQ ID NO:147. Dentro de otra modalidad se proporciona en donde el parche cubierto formado cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana comprende contactos de residuo 46, 47, 49, 50, 53, 112-116, 118, 120, 155, 156, 159, 160, y 163 de SEQ ID NO:145. En otra modalidad se proporciona en donde el parche cubierto formado cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana comprende contactos de residuo 46, 47, 49, 50, 53, 112-118, 120, 155, 156, 159, 160, y 163 de SEQ ID NO:145. Dentro de otra modalidad se proporciona en donde el parche

000020

cubierto formado cuando la proteína de enlace al antígeno se
enlaza a IL-23 humana comprende residuos 46, 47, 49, 50, 53-55,
57, 58, 112-116, 118-120, 155, 156, 159, 160, 162 y 163 de SEQ ID
NO:145. En una modalidad relacionada se proporciona en donde el
5 parche cubierto formado cuando la proteína de enlace al antígeno
se enlaza a IL-23 humana comprende contacto de residuo 122 de la
subunidad IL-23p40 humana como se describe en SEQ ID NO:147. En
otra modalidad relacionada se proporciona en donde el parche
cubierto formado cuando la proteína de enlace al antígeno se
10 enlaza a IL-23 humana comprende contactos de residuo 122 y 124 de
la subunidad IL-23p40 humana como se describe en SEQ ID NO:147.
Aún en otra modalidad relacionada se proporciona en donde el
parche cubierto formado cuando la proteína de enlace al antígeno
se enlaza a IL-23 humana comprende contacto de residuo 121-123 y
15 125 de la subunidad IL-23p40 humana como se describe en SEQ ID
NO:147. En una modalidad relacionada adicional se proporciona en
donde el parche cubierto formado cuando la proteína de enlace al
antígeno se enlaza a IL-23 humana comprende contacto de residuo
121-123, 125 y 283 de la subunidad IL-23p40 humana como se
20 describe en SEQ ID NO:147.

También se proporciona una proteína de enlace al antígeno
aislada que enlaza a IL-23 humana, en donde cuando dicha proteína
de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana dicha proteína de
enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de un residuo
dentro de los residuos 46-58, a partir de un residuo dentro de
los residuos 112-123, y a partir de un residuo dentro de los
residuos 155-163 de la subunidad IL-23p19 humana como se describe
en SEQ ID NO:145, como se determina por cristalografía de rayos

000021

X. En una modalidad, cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana, la proteína de enlace al antígeno es de 5 Å o menos desde uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce o trece residuos dentro de los residuos 46-58, desde uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez, residuos dentro de los residuos 112-123, y desde uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve residuos dentro de los residuos 155-163 de la subunidad IL-23p19 humana como se describe en SEQ ID NO:145. Dentro de otra modalidad cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana la proteína de enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de los residuos 46-50, 113-116, 120, 156, 159, 160 y 163 de SEQ ID NO:145. Dentro de otra modalidad cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana, la proteína de enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de los residuos 46-50, 112-120, 156, 159, 160 y 163 de SEQ ID NO:145. Dentro de una modalidad relacionada cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana, la proteína de enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de los residuos 46-50, 53, 112-120, 156, 159, 160 y 163 de SEQ ID NO:145. Dentro de otra modalidad cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana, la proteína de enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de los residuos 46-50, 53-55, 58, 113-116, 120, 121, 156, 159, 160, 162 y 163 de SEQ ID NO:145. Dentro de una modalidad relacionada cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana, la proteína de enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de los residuos 46-51, 53-55, 57, 58, 112-116, 118-121, 123, 155, 156, 159, 160, 162 y 163 de SEQ ID NO:145. Dentro de

000022

una modalidad adicional cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana la proteína de enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de un residuo dentro de los residuos 121-125, de la subunidad IL-23p40 humana como se describe en SEQ ID NO:147, como se determina por cristalografía de rayos X. Con una modalidad relacionada cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana, dicha proteína de enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de los residuos 122 y 124 de SEQ ID NO:147. Dentro de otra modalidad cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humana, la proteína de enlace al antígeno es de 5 Å o menos a partir de los residuos 121-123 y 125 de SEQ ID NO:147.

También se proporciona una proteína de enlace al antígeno aislada como se describe arriba, en donde la proteína de enlace al antígeno tiene al menos una propiedad seleccionada del grupo que consiste de: a) reducir la actividad de IL-23 humana; b) reducir la producción de una citoquina proinflamatoria; c) unir a IL-23 humana con un KD de $< 5 \times 10^{-8}$ M; d) que tiene una relación Koff de $\leq 5 \times 10^{-6}$ 1/s; y d) que tiene un IC50 de ≤ 400 pM.

Una composición farmacéutica que comprende al menos una proteína de enlace al antígeno como se describe arriba y excipiente farmacéuticamente aceptable se proporciona. En una modalidad se proporciona una composición farmacéutica que comprende además un grupo etiquetado o un grupo efector. Aún en otra modalidad se proporciona una composición farmacéutica en donde el grupo etiquetado es seleccionado del grupo que consiste de etiquetas isotópicas, etiquetas magnéticas, porciones activas de reducción oxidación, pigmentos ópticos, grupos biotinilados y

000023

epítomos de polipéptido predeterminados reconocidos por un reportero secundario. Aún en otra modalidad se proporciona una composición farmacéutica en donde el grupo efector es seleccionado del grupo que consiste de un radioisótopo, radionúclido, una toxina, un grupo terapéutico y un grupo quimioterapéutico.

También se proporciona un método para tratar o prevenir una afección asociada con IL-23 en un paciente, que comprende administrar a un paciente que necesita del mismo una cantidad efectiva de al menos una proteína de enlace al antígeno aislada como se describe arriba. En una modalidad se proporciona un método en donde la afección es seleccionada del grupo que consiste de un trastorno inflamatorio, un trastorno reumático, un trastorno inmunitario, un trastorno oncológico y un trastorno gastrointestinal. Aún en otra modalidad se proporciona un método en donde la afección es seleccionada del grupo que consiste de esclerosis múltiple, artritis reumatoide, cáncer, psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, lupus eritematoso sistémico, artritis psoriática, miocarditis autoinmunitaria; diabetes tipo 1 y espondilitis anquilosante. Todavía en otra modalidad se proporciona un método en donde la proteína de enlace al antígeno aislada es administrada sola o como una terapia de combinación.

También se proporciona un método de reducir la actividad IL-23 en un paciente que comprende administrar una cantidad efectiva de al menos una proteína de enlace al antígeno como se describe arriba. En una modalidad se proporciona un método para reducir la actividad IL-23, en donde dicha actividad IL-23 induce la

000024

producción de una citoquina proinflamatoria.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

FIGURA 1A: Resultados de ensayo STAT-reportero de luciferasa
5 usando IL-23 humana recombinante. Todos los anticuerpos inhiben
completamente la IL-23 humana recombinante

FIGURA 1B: Resultados del ensayo STAT-reportero de
luciferasa usando IL-23 humana nativa. Sólo la mitad de aquellos
anticuerpos que inhiben completamente la IL-23 humana
10 recombinante fueron capaces de inhibir completamente la IL-23
humana nativa.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención proporciona composiciones, kits, y
15 métodos relacionados a las proteínas de enlace al antígeno IL-23,
que incluyen moléculas que antagonizan IL-23, tal como
anticuerpos anti-IL-23, fragmentos de anticuerpo, y derivados de
anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos anti-IL-23 antagónicos,
fragmentos de anticuerpos, o derivados de anticuerpos. También se
20 proporcionan polinucleótidos, y derivados y fragmentos de los
mismos, que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que
codifican todo o una porción de un polipéptido que une a IL-23,
por ejemplo, un polinucleótido que codifica todo o parte de un
anticuerpo anti-IL-23, fragmento de anticuerpo, o derivado de
anticuerpo, plásmidos y vectores que comprenden tales ácidos
nucleicos, y células o líneas celulares que comprenden tales
polinucleótidos y/o vectores y plásmidos. Los métodos
proporcionados incluyen, por ejemplo, métodos para hacer,

000025

identificar o aislar las proteínas de enlace al antígeno IL-23, tales como anticuerpos anti-IL-23, métodos para determinar si una molécula se enlaza a IL-23, métodos para determinar si una molécula antagoniza IL-23, métodos para hacer composiciones, 5 tales como composiciones farmacéuticas, que comprenden una proteína de enlace al antígeno IL-23, y métodos para administrar una proteína de enlace al antígeno IL-23 a un sujeto, por ejemplo, métodos para tratar una afección mediada por IL-23, y para antagonizar una actividad biológica de IL-23, in vivo o in 10 vitro.

A menos que se defina de otra manera, los términos científicos y técnicos usados en conexión con la presente invención tendrán los significados que se entiende comúnmente por aquellos de experiencia ordinaria en la técnica. Además, a menos 15 que se requiera de otra manera por el contexto, los términos en singular incluirán pluralidades y los términos plurales incluirán el singular. Generalmente, las nomenclaturas usadas en conexión con, y técnicas de, células y cultivos de tejido, biología molecular, inmunobiología, microbiología, genéticas y proteína y 20 química de ácido nucleico e hibridización descritas en la presente son aquellas bien conocidas y usadas comúnmente en la técnica. Los métodos y técnicas de la presente invención se realizan generalmente de acuerdo con métodos convencionales bien conocidos en la técnica y como se describe en varias referencias generales y más específicas que se citan y discuten a través de la presente especificación a menos que se indique de otra manera. Ver, por ejemplo, Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press,

000026

Cold Spring Harbor, N.Y. (2001) y Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates (1992), y Harlow and Lane Antibodies: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990).

5 Las reacciones enzimáticas y técnicas de purificación se realizan de acuerdo con las especificaciones del fabricante, como se realiza comúnmente en la técnica o como se describe en la presente. La terminología usada en conexión con, y los procedimientos de laboratorio y técnicas de, química analítica, 10 química orgánica sintética, y química medicinal y farmacéutica descritas en la presente son aquellas bien conocidas y usadas comúnmente en la técnica. Pueden usarse técnicas estándar para síntesis química, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación, y suministro, y tratamiento de pacientes.

15 Todas las patentes y otras publicaciones identificadas se incorporan expresamente en la presente para referencia en su totalidad para los propósitos de descripción y revelado, por ejemplo, las metodologías descritas en tales publicaciones que pueden usarse en conexión con la información descrita en la 20 presente.

Las secuencias de polinucleótido y proteína de la subunidad p19 de IL-23 humana (SEQ ID NOs: 144 y 145), la subunidad p40 compartida (SEQ ID NOs: 146 y 147), las subunidades heterodiméricas del receptor IL-23 humano IL-12RP1 (SEQ ID NOs: 150 y 151) y IL-23R (SEQ ID NOs: 148 y 149), se conocen en la técnica, ver por ejemplo, Nos. de Acceso al GenBank AB030000; M65272, NM_005535, NM_144701, como son aquellos de otras especies de mamífero. Las proteínas del receptor IL-23 y IL-23

000027

recombinante que incluyen proteínas Fc y de cadena sencilla así como células que expresan el receptor IL-23 se han descrito o están disponibles de fuentes comerciales. (ver por ejemplo, Oppmann et al., *Immunity*, 2000, 13: 713-715; R&D Systems, Minneapolis. Minnesota; United States Biological, Swampscott, Massachusetts; Publicación OMPI No. WO 2007/076524). La IL-23 humana nativa puede obtenerse de células humanas tales como células dendríticas usando métodos conocidos en la técnica incluyendo aquellos descritos en la presente.

La IL-23 es una citoquina heterodimérica que está comprendida de una subunidad p19 única que se une covalentemente a una subunidad p40 compartida. La subunidad p19 comprende cuatro hélices α , "A", "B", "C" y "D" en una porción arriba-arriba-abajo-abajo juntada por tres rizos de hélice intra entre las hélices A y B, entre las hélices B y C y entre las hélices C y D, ver Oppmann et al., *Immunity*, 2000, 13: 713-715 y Beyer, et al., *J Mol Biol*, 2008. 382(4): 942-55. Las hélices A y D de 4 citoquinas en haz de 4 hélices se consideran que están involucradas con la unión del receptor. La subunidad p40 comprende tres dominios intercalados de lámina beta D1, D2 y D3 (Lupardus and Garcia, *J. Mol. Biol.*, 2008, 382:931-941).

El término "polinucleótido" incluye ácidos nucleicos tanto de hebra sencilla como de hebra doble e incluye ADN genómico, ARN, mRNA, cADN, u origen sintético o alguna combinación de los mismos que no se asocia con secuencias normalmente encontradas en la naturaleza. Los polinucleótidos aislados que comprenden secuencias específicas pueden incluir, además de las secuencias específicas, secuencias de codificación para hasta diez o aún

000023

hasta veinte de otras proteínas o porciones de las mismas, o pueden incluir secuencias reguladoras ligadas operablemente que controlan la expresión de la región de codificación de las secuencias de ácido nucleico recitadas, y/o pueden incluir

5 secuencias de vector. Los nucleótidos que comprenden el polinucleótido pueden ser ribonucleótidos o desoxiribonucleótidos o una forma modificada de cualquier tipo de nucleótido. Las modificaciones incluyen modificaciones base tales como derivados de bromouridina e inosina, modificaciones de ribosa tales como

10 2',3'-didesoxiribosa, y modificaciones de ligadura internucleótido tales como fosforotioato, fosforoditioato, fosforoselenoato, fosforodiselenoato, fosforoanilotioato, fosforaniladato y fosforoamidato.

El término "oligonucleótido" significa un polinucleótido que

15 comprende 100 o más nucleótidos. En algunas modalidades, los oligonucleótidos son de 10 hasta 60 bases en longitud. En otras modalidades, los oligonucleótidos son de 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20 hasta 40 nucleótidos en longitud. Los oligonucleótidos pueden ser de hebra sencilla o hebra doble, por

20 ejemplo, para uso en la construcción de un gen mutante. Los oligonucleótidos pueden ser oligonucleótidos sentido o antisentido. Un oligonucleótido puede incluir una etiqueta detectable, tales como una radioetiqueta, una etiqueta fluorescente, un hapteno o una etiqueta antigénica, para ensayos de detección. Los oligonucleótidos pueden usarse, por ejemplo, como cebadores PCR, cebadores de clonación o sondas de hibridización.

Los términos "polipéptido" o "proteína" significan una

000029

macromolécula que tiene la secuencia de aminoácidos de una proteína nativa, esto es, una proteína producida por una célula que se presenta naturalmente y no recombinante; o es producida por una célula producida por ingeniería genéticamente o recombinante, y comprende moléculas que tienen la secuencia de aminoácidos de la proteína nativa, o moléculas que tienen una o más eliminaciones de, inserciones a, y/o sustituciones de los residuos de aminoácidos de la secuencia nativa. El término también incluye polímeros de aminoácido en los cuales uno o más aminoácidos son análogos químicos de aminoácidos y polímeros que se presentan naturalmente correspondientes. Los términos "polipéptido" y "proteína" abarcan las proteínas de enlace al antígeno IL-23 (tales como anticuerpos) y secuencias que tienen una o más eliminaciones de, adiciones a, y/o sustituciones de los residuos de aminoácidos de la secuencia de proteína de enlace al antígeno. El término "fragmento de polipéptido" se refiere a un polipéptido que tiene una eliminación de terminal amino, una eliminación de terminal carboxilo, y/o una eliminación interna en comparación con la proteína nativa de longitud completa. Tales fragmentos también pueden contener aminoácidos modificados en comparación con la proteína nativa. En ciertas modalidades, los fragmentos son de alrededor de cinco hasta 500 aminoácidos de longitud. Por ejemplo, los fragmentos pueden ser de al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 50, 70, 100, 110, 150, 200, 250, 300, 350, 400, o 450 aminoácidos de longitud. Los fragmentos de polipéptidos útiles incluyen fragmentos inmunológicamente funcionales de anticuerpos, que incluyen dominios de unión. En el caso de una proteína de enlace

000030

al antígeno IL-23, tales como un anticuerpo, los fragmentos útiles incluyen pero no se limitan a una o más regiones CDR, un dominio variable de una cadena pesada o ligera, una porción de una cadena de anticuerpo, una porción de una región variable que
5 incluye menos de tres CDRs, y similares.

"Aminoácido" incluye su significado normal en la técnica. Los veinte aminoácidos que se presentan naturalmente y sus abreviaturas siguen el uso convencional. Ver, Immunology-A Synthesis, 2^a Edición, (E. S. Golub and D. R. Gren, eds.),
10 Sinauer Associates: Sunderland, Mass. (1991). Los estereoisómeros (por ejemplo, aminoácidos D) de los veinte aminoácidos convencionales, aminoácidos no naturales tales como aminoácidos [alfa]-, disustituidos con [alfa]-, aminoácidos N-alquilo, y otros aminoácidos no convencionales también pueden ser
15 componentes apropiados para polipéptidos. Los ejemplos de aminoácidos no convencionales incluyen: 4-hidroxiprolina, [gamma]-carboxiglutamato, [epsilon]-N,N,N-trimetilisina, [epsilon]-N-acetilisina, O-fosfoserina, N-acetilserina, N-formilmetionina, 3-metilhistidina, 5-hidroxilisina, [sigma]-N-
20 metilarginina, y otros aminoácidos e iminoácidos similares (por ejemplo, 4-hidroxiprolina). En la anotación del polipéptido usada en la presente, la dirección al lado izquierdo es la dirección de terminal amino y la dirección al lado derecho es la dirección de terminal carboxilo, de acuerdo con uso estándar y convencional.

El término "proteína aislada" se refiere a una proteína, tal como una proteína de enlace al antígeno (un ejemplo de la cual pudiera ser un anticuerpo), que se purifica de proteínas o polipéptidos u otros contaminantes que pudieran interferir con
000031

uso terapéutico, de diagnóstico, de investigación u otro. Como se usa en la presente, "sustancialmente puro" significa que la especie descrita de molécula es la especie predominante presente, esto es, en una base molar es más abundante que cualquier otra especie individual en la misma mezcla. En ciertas modalidades, una molécula sustancialmente pura es una composición en donde la especie objetivo comprende al menos 50% (en una base molar) de todas las especies macromolares presentes. En otras modalidades, una composición sustancialmente pura comprenderá al menos 80%, 85%, 90%, 95%, o 99% de todas las especies macromoleculares presentes en la composición. En ciertas modalidades, se ha purificado una sustancia homogénea hasta un grado tal que la especie contaminante no se detecta en la composición por métodos de detección convencionales y de esta manera la composición consiste de una especie macromolecular detectable sencilla.

Una "variante" de un polipéptido (por ejemplo, una proteína de enlace al antígeno tal como un anticuerpo) comprende una secuencia de aminoácido en donde uno o más residuos de aminoácidos se insertan en, eliminan de y/o sustituyen en la secuencia de aminoácidos con relación a otra secuencia de polipéptido. Las variantes incluyen proteínas de fusión. Un "derivado" de un polipéptido es un polipéptido que se ha modificado químicamente de alguna manera distinta de las variantes de inserción, eliminación, o sustitución, por ejemplo, por medio de conjugación a otra porción química.

Los términos "que se presenta naturalmente" o "nativa" como se usa a través de la especificación en conexión con materiales biológicos tales como polipéptidos, ácidos nucleicos, células

000032

hospederas, y similares, se refiere a materiales que se encuentran en la naturaleza, tales como IL-23 humana nativa. En ciertos aspectos, se proporcionan las proteínas de enlace al antígeno recombinantes que unen IL-23 nativa. En este contexto, una "proteína recombinante" es una proteína hecha usando técnicas recombinante, es decir, a través de la expresión de un ácido nucleico recombinante como se describe en la presente. Los métodos y técnicas para la producción de proteínas recombinantes son bien conocidos en la técnica.

El término "anticuerpo" se refiere a una inmunoglobulina intacta de cualquier isotipo, o un fragmento de la misma que puede competir con el anticuerpo intacto para unión específica al anticuerpo objetivo, e incluye, por ejemplo, anticuerpos quiméricos, humanizados, completamente humanos, y biespecíficos.

Un anticuerpo como tal es una especie de una proteína de enlace al antígeno. A menos que se indique de otra manera, el término "anticuerpo" incluye, además de los anticuerpos que comprenden dos cadenas pesadas de longitud completa y dos cadenas ligeras de longitud completas, derivados, variantes, fragmentos, y muteínas de los mismos, ejemplos de los cuales se describen enseguida. Un anticuerpo intacto comprenderá generalmente al menos dos cadenas pesadas de longitud completa y dos cadenas ligeras de longitud completas, pero en algunos casos puede incluir menos cadenas tales como anticuerpos que se presentan naturalmente en camélidos que pueden comprender sólo cadenas pesadas. Los anticuerpos pueden derivarse únicamente de una fuente sencilla, o pueden ser "quimérico," esto es, porciones diferentes del anticuerpo pueden derivarse de dos anticuerpos diferentes como se describe además

000033

enseguida. Las proteínas de enlace al antígeno, anticuerpos, o fragmentos de unión pueden producirse en hibridomas, por técnicas de ADN recombinante, o por escisión enzimática o química de anticuerpos intactos.

5 El término "fragmento funcional" (o sencillamente "fragmento") de un anticuerpo o cadena de inmunoglobulina (cadena pesada o ligera), como se usa en la presente, es una proteína de enlace al antígeno que comprende una porción (sin tener en cuenta que porción se obtiene o sintetiza) de un anticuerpo que carece
10 al menos de algo de los aminoácidos presentes en una cadena de longitud completa pero que es capaz de unir específicamente a un antígeno. Tales fragmentos son biológicamente activos en que unen específicamente a un antígeno objetivo y pueden competir con otras proteínas de enlace al antígeno, incluyendo anticuerpos
15 intactos, para unión específica a un epítipo dado. En un aspecto, tal fragmento mantendrá al menos un CDR presente en la cadena ligera o pesada de longitud completa, y en algunas modalidades comprenderá una cadena pesada sencilla y/o cadena ligera o porción de la misma. Estos fragmentos biológicamente activos
20 pueden producirse por técnicas de ADN recombinantes, o pueden producirse por escisión enzimática o química de proteínas de enlace al antígeno, que incluyen anticuerpos intactos. Los fragmentos incluyen, pero no se limitan a, fragmentos inmunológicamente funcionales tales como Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, anticuerpos de dominio y anticuerpos de cadena sencilla, y pueden derivarse de cualquier fuente de mamífero, incluyendo pero no limitado a humano, ratón, rata, camélido o conejo. Se contempla además que una porción funcional de las proteínas de enlace al

000034

antígeno descritas en la presente, por ejemplo, uno o más CDRs, pudieran unirse covalentemente a una segunda proteína o a una molécula pequeña para crear un agente terapéutico dirigido a un objetivo particular en el cuerpo, que posee propiedades terapéuticas bifuncionales, o que tiene una vida media en suero prolongada.

El término "compite" cuando se usa en el contexto de proteínas de enlace al antígeno (por ejemplo, neutralizar proteínas de enlace al antígeno o neutralizar anticuerpos) significa la competencia entre las proteínas de enlace al antígeno como se determina por un ensayo en el cual la proteína de enlace al antígeno (por ejemplo, anticuerpo o fragmento inmunológicamente funcional del mismo) bajo prueba previene o inhibe la unión específica de una proteína de enlace al antígeno de referencia (por ejemplo, un ligando, o un anticuerpo de referencia) a un antígeno común (por ejemplo, una proteína IL-23 o un fragmento de la misma). Numerosos tipos de ensayos de unión competitiva pueden usarse, por ejemplo: radioinmunoensayo directo o indirecto de fase sólida (RIA), inmunoensayo de enzima directo o indirecto de fase sólida (EIA), ensayo de competencia intercalado (ver, por ejemplo, Stahli et al., 1983, Methods in Enzymology 92:242-253); EIA de biotina-avidina directo de fase sólida (ver, por ejemplo, Kirkland et al., 1986, J. Immunol. 137:3614-3619) ensayo de etiquetado directo de fase sólida, ensayo de intercalado de etiquetado directo de fase sólida (ver, por ejemplo, Harlow and Lane, 1988, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press); RIA de etiqueta directa de fase sólida usando etiqueta I-125 (ver, por ejemplo, Morel et

000035

al., 1988, Molec. Immunol. 25:7-15); EIA de biotina-avidina directo de fase sólida (ver, por ejemplo, Cheung, et al., 1990, Virology 176:546-552); y RIA de etiquetado directo (Moldenhauer et al., 1990, Scand. J. Immunol. 32:77-82). Típicamente, tal
5 ensayo involucra el uso de antígeno purificado unido a una superficie sólida o células que portan cualquiera de estos, una proteína de enlace al antígeno de prueba indetectable y una proteína de enlace al antígeno de referencia etiquetada.

La inhibición competitiva se mide al determinar la cantidad
10 de etiqueta unida a la superficie sólida en presencia de la proteína de enlace al antígeno de prueba. Usualmente la proteína de enlace al antígeno de prueba se presenta en exceso. Las proteínas de enlace al antígeno identificadas por el ensayo de competencia (proteínas de enlace al antígeno de competencia)
15 incluyen proteínas de enlace al antígeno que unen el mismo epítipo como las proteínas de enlace al antígeno de referencia y proteínas de enlace al antígeno que unen un epítipo adyacente suficientemente próximo al epítipo enlazado por la proteína de enlace al antígeno de referencia para que se presente la
20 obstaculización estérica. Usualmente, cuando se presenta en exceso la proteína de enlace al antígeno de competencia. Esta inhibirá la unión específica de una proteína de enlace al antígeno de referencia a un antígeno común por al menos 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% o 75%. En algún caso, la unión se inhibe por al menos 80%, 85%, 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 98%, 99% o más.

El término "epítipo" o "determinante antigénica" se refiere a un sitio en un antígeno al cual se une una proteína de enlace

000036

al antígeno. Los epítomos pueden formarse tanto de aminoácidos contiguos como de aminoácidos no contiguos yuxtapuestos por plegado terciario de una proteína. Los epítomos formados de los aminoácidos contiguos se mantienen típicamente en exposición a
5 solvente desnaturalizados, mientras que los epítomos formados por plegado terciario se pierden típicamente en el tratamiento con solventes desnaturalizados. Las determinantes de epítomo pueden incluir agrupamientos de superficie químicamente activos de moléculas tales como aminoácidos, cadenas laterales de azúcar,
10 grupos fosforilo o sulfonilo, y pueden tener características estructurales tridimensionales, y/o características de carga específicas. Un epítomo incluye típicamente al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35 aminoácidos en una conformación espacial única. Los epítomos
15 pueden determinarse usando métodos conocidos en la técnica.

Proteínas de enlace al antígeno IL-23

Una "proteína de enlace al antígeno" como se usa en la presente significa una proteína que une específicamente un
20 antígeno objetivo especificado; el antígeno como se proporciona en la presente es IL-23, particularmente IL-23 humano, que incluyen IL-23 humano nativo. Las proteínas de enlace al antígeno como se proporciona en la presente interactúan con al menos una porción de la subunidad p19 única de IL-23, IL-23 unida detectablemente; pero no unida con ninguna importancia a IL-12 (por ejemplo, las subunidades p40 y/o p35 de IL-12), de esta manera "IL-12 económico". Como una consecuencia, las proteínas de enlace al antígeno proporcionadas en la presente son capaces de

000037

impactar la actividad IL-23 sin los riesgos potenciales de que la inhibición de IL-12 o la subunidad p40 compartida puedan incurrir. Las proteínas de enlace al antígeno pueden impactar la capacidad de IL-23 para interactuar con su receptor, por ejemplo
5 al impactar la unión al receptor, tales como al interferir con la asociación del receptor. En particular, tales proteínas de enlace al antígeno reducen, inhiben, interfieren con o modulan totalmente o parcialmente una o más actividades biológicas de IL-23. Tal inhibición o neutralización rompe la respuesta biológica
10 en presencia de una proteína de enlace al antígeno en comparación con la respuesta en ausencia de la proteína de enlace al antígeno y puede determinarse usando ensayos conocidos en la técnica y descritos en la presente. Las proteínas de enlace al antígeno, proporcionadas en la presente, inhiben la producción de citoquina
15 proinflamatoria inducida por IL-23, por ejemplo producción de IL-22 inducida por IL-23 en células de sangre entera y expresión IFN γ inducida por IL-23 en células NK y de sangre entera. La reducción de la actividad biológica puede ser de alrededor de 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91 %, 92%, 93%,
20 94%, 95%, 96%, 97% 98%, 99% o más.

Una proteína de enlace al antígeno puede comprender una porción que une a un antígeno y, opcionalmente, un andamiaje o porción de estructura que permite que la porción unida al antígeno adopte una conformación que promueve la unión de la proteína de enlace al antígeno con el antígeno. Los ejemplos de proteínas de enlace al antígeno incluyen anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, una porción de enlace al antígeno de un anticuerpo), derivados de anticuerpos, y análogos de

000038

anticuerpo. La proteína de enlace al antígeno puede comprender un andamiaje de proteína alternativa o andamiaje artificial con CDRs injertados o derivados de CDR. Tales andamiajes incluyen, pero no se limitan a, andamiajes derivados de anticuerpo que comprenden mutaciones introducidas para, por ejemplo, estabilizar la estructura tridimensional de la proteína de enlace al antígeno así como andamiajes completamente sintéticos, por ejemplo, un polímero biocompatible. Ver, por ejemplo, Korndorfer et al., *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, (2003) Volumen 53, Publicación 1:121-129; Roque et al., *Biotechnol. Prog.*, 2004, 20:639-654. Además, pueden usarse imitadores de anticuerpo péptido ("PAMs"), así como andamiajes basados en imitadores de anticuerpo que utilizan componentes de fibroconexión como un andamiaje.

Ciertas proteínas de enlace al antígeno descritas en la presente son anticuerpos o se derivan de anticuerpos. Tales proteínas de enlace al antígeno incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos monoclonales, anticuerpos biespecíficos, minicuerpos, anticuerpos de dominio, anticuerpos sintéticos, imitadores de anticuerpo, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, fusiones de anticuerpo, conjugados de anticuerpo, anticuerpos de cadena sencilla, y fragmentos de los mismos, respectivamente. En algunos casos, la proteína de enlace al antígeno es un fragmento inmunológico de un anticuerpo (por ejemplo, un Fab, un Fab', un F(ab')₂, o un scFv). Las diversas estructuras se describen y definen además en la presente.

Ciertas proteínas de enlace al antígeno que se proporcionan pueden comprender uno o más CDRs como se describe en la presente

000039

(por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más CDRs). En algunos casos, la proteína de enlace al antígeno comprende (a) una estructura de polipéptido y (b) uno o más CDRs que se insertan en y/o juntan a la estructura de polipéptido. La estructura de polipéptido puede tomar una variedad de diferentes formas. Por ejemplo, puede ser, o comprender, la estructura del anticuerpo que se presenta naturalmente, o fragmento o variante del mismo, o puede ser completamente sintético en naturaleza. Los ejemplos de varias estructuras de polipéptido se describen además enseguida.

Una proteína de enlace al antígeno de la invención se dice que "enlaza específicamente" su anticuerpo objetivo cuando la constante de equilibrio de disociación (KD) es $\leq 10^{-8}$ M. La proteína de enlace al antígeno une específicamente antígenos con "alta afinidad" cuando el KD es $\leq 5 \times 10^{-9}$ M, y con "muy alta afinidad" cuando el KD es $\leq 5 \times 10^{-10}$ M. En una modalidad la proteína de enlace al antígeno se uniera a IL-23 humana con un KD de $\leq 5 \times 10^{-12}$ M, y aún en otra modalidad se unirá con un KD de $\leq 5 \times 10^{-13}$ M. En otra modalidad de la invención, la proteína de enlace al antígeno tiene un KD de $\leq 5 \times 10^{-12}$ M y un Koff de alrededor de $< 5 \times 10^{-6}$ 1/s. En otra modalidad, el Koff es $< 5 \times 10^{-7}$ 1/s.

Otro aspecto proporciona una proteína de enlace al antígeno que tiene una vida media de al menos un día in vitro o in vivo (por ejemplo, cuando se administra a un sujeto humano). En una modalidad, la proteína de enlace al antígeno tiene una vida media de al menos tres días. En otra modalidad, el anticuerpo o porción del mismo tiene una vida media de cuatro días o más larga. En otra modalidad, el anticuerpo o porción del mismo tiene una vida

000040

media de ocho días o más larga. En otra modalidad, el anticuerpo o porción de enlace al antígeno del mismo se deriva o modifica de tal manera que tiene una vida media más larga comparada con el anticuerpo no derivado o no modificado. En otra modalidad, la

5 proteína de enlace al antígeno contiene mutaciones de punto para incrementar la vida media en suero, tal como se describe en la Publicación OMPI No. WO 00/09560.

En modalidades donde la proteína de enlace al antígeno se usa para aplicaciones terapéuticas, una proteína de enlace al antígeno

10 pueden reducir, inhibir, interferir con o modular una o más actividades biológicas de IL-23, tal como inducir la producción de citoquinas proinflamatorias. IL-23 tiene muchos efectos biológicos distintos, que pueden medirse en muchos ensayos diferentes en tipos de células diferentes; los ejemplos de tales ensayos se conocen y

15 se proporcionan en la presente.

Algunas de las proteínas de enlace al antígeno que se proporcionan tienen la estructura típicamente asociada con anticuerpos que se presentan naturalmente. Las unidades

estructurales de estos anticuerpos comprenden típicamente uno o más

20 tetrámeros, cada uno compuesto de dos acoplados idénticos de cadenas de polipéptido, aunque algunas especies de mamíferos también producen anticuerpos que sólo tienen una cadena pesada sencilla. En un anticuerpo típico, cada par de acoplados incluye una cadena "ligera" de longitud completa (en ciertas modalidades, alrededor de 25 kDa) y una cadena "pesada" de longitud completa (en ciertas modalidades, alrededor de 50-70 kDa). Cada cadena de inmunoglobulina individual está compuesta de varios "dominios de inmunoglobulina", cada uno consiste de casi 90 hasta 110

000041

aminoácidos y que expresa un patrón de plegado característicos. Estos dominios son las unidades básicas de las cuales están compuestos los polipéptidos de anticuerpos. La porción de terminal amino de cada cadena incluye típicamente una región variable que es responsable del reconocimiento de antígeno. La porción de terminal carboxi es más conservadora evolutivamente que el otro extremo de la cadena y se refiere como la "región constante" o "región C". Las cadenas ligeras humanas generalmente se clasifican como cadenas ligeras kappa y lambda, y cada una de estas contiene una región variable y un dominio constante (CL1). Las cadenas pesadas se clasifican típicamente como cadenas mu, delta, gamma, alfa, o epsilon, y estas definen el isotipo del anticuerpo como IgM, IgD, IgG, IgA, y IgE, respectivamente. IgG tiene varios subtipos, incluyendo, pero no limitado a, IgG1, IgG2, IgG3, e IgG4. Los subtipos IgM incluyen IgM, e IgM2. Los subtipos IgA incluyen IgA1 e IgA2. En humanos, los isotipos IgA e IgD contienen cuatro cadenas pesadas y cuatro cadenas ligeras; los isotipos IgG e IgE contienen dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras; y el isotipo IgM contiene cinco cadenas pesadas y cinco cadenas ligeras. La región constante de cadena pesada (CH) comprende típicamente uno o más dominios que pueden ser responsables para la función efectora. El número de dominios de región constante de cadena pesada dependerá del isotipo. Las cadenas pesadas IgG, por ejemplo, cada una contiene tres dominios de región CH conocidas como CH1, CH2 y CH3. Los anticuerpos que se proporcionan pueden tener cualquiera de estos isotipos y subtipos, por ejemplo, la proteína de enlace al antígeno IL-23 es del subtipo IgG1, IgG2, o IgG4. Si se desea un IgG4, también puede desearse introducir una mutación de punto

000042

(CPSCP->CPPCP) en la región de bisagra como se describe en Bloom et al., 1997, Protein Science 6:407) para aliviar una tendencia a formar uniones de disulfuro de cadena intra H que pueden llevar a heterogeneidad en los anticuerpos IgG4. Los anticuerpos proporcionados en la presente que son de un tipo pueden cambiarse a un tipo diferente usando métodos de conmutado de subclase. Ver, por ejemplo, Lantto et al., 2002, Methods Mol. Biol. 178:303-316.

En cadenas ligeras y pesadas de longitud completa, las regiones variable y constante se unen por una región "J" de alrededor de doce o más aminoácidos, con la cadena pesada también incluyendo una región "D" de alrededor de diez aminoácidos más. Ver, por ejemplo, Fundamental Immunology, 2ª ed., Cap. 7 (Paul, W., ed.) 1989, New York: Raven Press. Las regiones variables de cada par de cadena ligera/pesada forma típicamente el sitio de enlace al antígeno.

Regiones Variables

Varias regiones variables de cadena pesada y cadena ligera (o dominios) proporcionados en la presente se describen en las TABLAS 1 y 2. Cada una de estas regiones variables puede enlazarse, por ejemplo, a regiones constantes de cadena pesada y ligera descritas antes. Además, cada una de estas secuencias de cadena pesada y ligera así generadas puede combinarse para formar una estructura de proteína de enlace al antígeno completa.

Se proporcionan proteínas de enlace al antígeno que contienen al menos una región variable de cadena pesada (VH) seleccionada del grupo que consiste de VH1, VH2, VH3, VH4, VH5, VH6, VH7, VH8, VH9, VH10, VH11, VH12, VH13, VH14, VH15 y VH16 y/o al menos una región

000043

variable de cadena ligera (VL) seleccionado del grupo que consiste de VL1, VL2, VL3, VL4, VL5, VL6, VL7, VL8, VL9, VL10, VL11, VL12, VL13, VL14, VL15, y VL16 como se muestra en las TABLAS 1 y 2 enseguida.

5 Cada una de las regiones variables de cadena pesada enlistada en la TABLA 2 puede combinarse con cualquiera de las regiones variables de cadena ligera mostradas en la TABLA 1 para formar una proteína de enlace al antígeno. En algunos casos, la proteína de enlace al antígeno incluye al menos una región variable de cadena
10 pesada y/o una región variable de cadena ligera de aquellas enlistadas en las TABLAS 1 y 2. En algunos casos, la proteína de enlace al antígeno incluye al menos dos regiones variables de cadena pesada y/o regiones variables de cadena ligera diferentes de aquellas enlistadas en las TABLAS 1 y 2. Las diversas combinaciones
15 de regiones variables de cadena pesada pueden combinarse con cualquiera de varias combinaciones de regiones variables de cadena ligera.

 En otros casos, la proteína de enlace al antígeno contiene dos regiones variables de cadena ligera y/o dos regiones variables de
20 cadena pesada idénticas. Como un ejemplo, la proteína de enlace al antígeno puede ser un anticuerpo o fragmento inmunológicamente funcional que comprende dos regiones variables de cadena ligera y dos regiones variables de cadena pesada en combinaciones de pares de regiones variables de cadena ligera y pares de regiones variables de cadena pesada como se enlista en las TABLAS 1 y 2. Los ejemplos de tales proteínas de enlace al antígeno que comprenden dos cadenas pesadas idénticas y regiones variables de cadena ligera incluyen: Anticuerpo A VH14/ VL14; Anticuerpo B VH9/ VL9; Anticuerpo

000044

C VH10/ VL10; Anticuerpo D VH15/ VL15; Anticuerpo E VH1/ VL1, Anticuerpo F VH11/ VL11; Anticuerpo G VH12/ VL12; Anticuerpo H VH13/ VL13; Anticuerpo I VH8/ VL8; Anticuerpo J VH3/ VL3; Anticuerpo K VH7/ VL7; Anticuerpo L VH4/ VL4; Anticuerpo M VH5/ VL5 y Anticuerpo N VH6/ VL6.

5 Algunas proteínas de enlace al antígeno que se proporcionan comprenden una región variable de cadena pesada y/o una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que difieren de la secuencia de una región variable de cadena pesada y/o una región variable de cadena ligera seleccionada de las TABLAS 1 y 2 en sólo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 residuos de aminoácidos, en
10 donde cada una de tales diferencias de secuencias es independientemente ya sea una eliminación, inserción o sustitución de un aminoácido. Las regiones variables de cadena pesada y ligera, en algunas proteínas de enlace al antígeno, comprenden secuencias de aminoácidos que tiene al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o
15 99% de identidad de secuencia a las secuencias de aminoácidos proporcionadas en las TABLAS 1 y 2. Todavía otras proteínas de enlace al antígeno, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos inmunológicamente funcionales, también incluyen formas de región de cadena pesada variante y/o formas de región de cadena ligera variante como se describe en la presente.

20 El término "identidad" se refiere a una relación entre las secuencias de dos o más moléculas de polipéptido o dos o más polinucleótidos, como se determina al alinear y comparar las secuencias. "Porcentaje de identidad" significa el porcentaje de residuos idénticos entre los aminoácidos o nucleótidos en las moléculas comparadas y se calcula con base en el tamaño de la más pequeña de las moléculas a compararse.

000045

Secuencias de Región de Cadena Ligera Variante Ejemplar

TABLA 1

	FR1	CDRL1	FR2	CDRL2	FR3	CDRL3	FR4
V ₁ ,1	QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNTGAGYDVHWHYQQVPGTAPKLLIYGSGNRP	SGV	PDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSL	SGWV	FGGG	TRL	TVL
	SEQ ID NO:1						
V ₁ ,2	QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWHYQQQLPGTAPKLLIYG	SNRPS	GV	PDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSL	SGWV	FGGG	TKLTVL
	SEQ ID NO:3						
V ₁ ,3	QAVLTQPPSSLASPGASASLTCTLRSGINVGTYRIYWHYQQKPGSPPYLLR	YKSDSDK	QQGSGVPSRFS	SGSKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMIWHSSASV	FGGG	TKLTVL	
	SEQ ID NO:4						
V ₁ ,4	QAVLTQPPSSLASPGASASLTCTLRSGINVGTYRIYWHYQQKPGSPPYLLR	YKSDSDK	QQGSGVPSRFS	SGSKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMIWHSSASV	FGGG	TKLTVL	
	SEQ ID NO:4						
V ₁ ,5	QPVLTQPPSASASLGASVLTCTLNSGYSDYKVDWYQKPGKGRFVMRVGTGGIVGSKG	EGIPDRFSVLG	SGLNRYLT	IKNIQEEDESDYHCGADHGSGSNFVYV	FGTKV	TVL	
	SEQ ID NO:7						
V ₁ ,6	QPVLTQPPSASASLGASVLTCTLSSGYSDYKVDWYQKPGKGRFVMRVGTGGIVGSKG	EGIPDRFSVLG	SGLNRYLT	IKNIQEEDESDYHCGADHGSGSNFVYV	FGTKV	TVL	
	SEQ ID NO:9						
V ₁ ,7	QPELTQPPSASASLGASVLTCTLSSGYSDYKVDWYQKPGKGRFVMRVGTGGIVGSKG	EGIPDRFSVLG	SGLNRYLT	IKNIQEEDESDYHCGADHGSGSNFVYV	FGTKV	TVL	
	SEQ ID NO:11						
V ₁ ,8	DIQLTPSPSSVSASVGDRTITCRASQGIAGWLA	WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ	SGVPSRFS	SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQA	SFPFT	FGGG	TKVEIK
	SEQ ID NO:13						
V ₁ ,9	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQVISSWLA	WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ	SGVPSRFS	SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQA	SFPFT	FGPGTKV	DFK
	SEQ ID NO:15						
V ₁ ,10	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGSSSWFA	WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ	SGVPSRFS	SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQA	SFPFT	FGPGTKV	DIK
	SEQ ID NO:17						
V ₁ ,11	DSQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISSWFA	WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ	SGVPSRFS	SGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQA	SFPFT	FGPGTKV	DIK
	SEQ ID NO:19						
V ₁ ,12	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRAGQVISSWLA	WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ	SGVPSRFS	SGSGTDFTLTISSLQPD	FATYYCQQA	TSFPLTF	FGGGTKVEIK
	SEQ ID NO:21						
V ₁ ,13	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGFSGWLA	WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ	SGVPSRFS	SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQA	SFPFT	FGPGTKV	DIK
	SEQ ID NO:23						
V ₁ ,14	DIQLTQSPSSVSASVGDRTITCRASQVISSWFA	WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ	SGVPSRFS	SGSGTDFTLTISSLQPADFATYFCQQA	SFPFT	FGPGTKV	DVK
	SEQ ID NO:25						
V ₁ ,15	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGSSSWFA	WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ	SGVPSRFS	SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQA	SFPFT	FGPGTKV	DIK
	SEQ ID NO:27						
V ₁ ,16	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQGI	RNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQ	SGVPSRFS	SGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNS	YPPPT	FGG	TKVEIE
	SEQ ID NO:29						

000046

TABLA 2

Secuencias de Region de Cadena Pesada de Variante Ejemplar

	FR1	CDRH1	FR2	CDRH2	FR3	CDRH3	FR4																	
V _h 1	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFS	SYGMH	WVRQAPGKGLEWVA	VIWYDGS	NEYADSVKGRFTISRDN	SKNTLYLQMN	SLRAEDTAVYYCARD	RGY	TSSWY	PD	AFD	WVG	QGT	MV	TV	SS								
	SEQ ID NO:31																							
V _h 2	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFS	SYGMH	WVRQAPGKGLEWVA	VIWYDGS	SNKYADSVKGRFTISRDN	SKNTLYLQMN	SLRAEDTAVYYCARD	RGY	TSSWY	PD	AFD	WVG	QGT	MV	TV	SS								
	SEQ ID NO:33																							
V _h 3	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFS	SYGMH	WVRQAPGKGLEWVA	VISFDG	SLKYADSVKGRFTISRDN	SKNTLYLQMN	SLRAEDTAVYYCARE	RTL	SGSY	FD	WVG	QGT	LV	TV	SS									
	SEQ ID NO:34																							
V _h 4	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFS	SYAMH	WVRQAPGKGLEWLS	VISHOG	SIKYADSVKGRFTISRDN	SKNTLYLQMN	SLRAEDTAVYYCARE	RTL	SGSY	FD	WVG	QGT	LV	TV	SS									
	SEQ ID NO:36																							
V _h 5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	SYSMN	WVRQAPGKGLEWVS	YISSRS	STIYADSVKGRFTISRDN	AKNSLYLQMN	SLRDEDTAVYYCARR	IAA	AG	PW	G	Y	Y	A	L	D	WVG	QGT	TV	TV	SS			
	SEQ ID NO:38																							
V _h 6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	SYSMN	WVRQAPGKGLEWVS	YISSRS	STRYHADSVKGRFTISRDN	AKNSLYLQMN	SLRDEDTAVYYCARR	IAA	AG	PW	G	Y	Y	A	L	D	WVG	QGT	TV	TV	SS			
	SEQ ID NO:40																							
V _h 7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVVS	GFTFS	SFSMN	WVRQAPGKGLEWVS	YISSRS	STIYADSVKGRFTISRDN	AKNSLYLQMN	SLRDEDTAVYYCARR	IAA	AG	PW	G	Y	Y	A	L	D	WVG	QGT	TV	TV	SS		
	SEQ ID NO:42																							
V _h 8	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIS	TYYS	WSWIRQPAGKLEWIG	LIY	TSG	STNYP	SLKSRVTIS	VDTSKNQ	FSLRLTSV	TAADTAVYYCARD	RG	Y	Y	Y	G	D	WVG	QGT	TV	TV	SS			
	SEQ ID NO:44																							
V _h 9	QVQLQESGPGLVKPSQTL	SLTCTVSGGSIS	SGGY	YWSWIRQHPGKLEWIG	HIH	YSG	TNYP	SLKSRVTIS	VDTSKNQ	FSLKSSV	TAADTAVYYCAK	NR	G	F	Y	Y	G	D	WVG	QGT	TV	TV	SS	
	SEQ ID NO:46																							
V _h 10	QVQLQESGPGLVKPSQTL	SLTCTVSGGSIN	SGGY	YWSWIRQHPGKLEWIG	YIY	SG	SS	YYP	SLKSRVTIS	VDTSKNQ	FSLKSSV	TAADTAVYYCARD	DR	G	H	Y	Y	G	D	WVG	QGT	TV	TV	SS
	SEQ ID NO:48																							
V _h 11	QVQLQESGPGLVKPSQTL	SLTCTVSGGSIS	SGGY	YWSWIRQHPGKLEWIG	YIY	SG	ST	YYP	SLKSRVTIS	VDTSKNQ	FSLKSSV	TAADTAVYYCARD	DR	G	H	Y	Y	G	D	WVG	QGT	TV	TV	SS
	SEQ ID NO:50																							
V _h 12	QVQLQESGPRLVKPSETLSLTCTVSGDSIS	SY	FW	SWIRQPPGKLEWLG	YIY	SG	ST	YYP	SLKSRVTIS	IDTSKNQ	FSLKSSV	TAADTAVYYCTR	DR	G	S	Y	Y	G	D	WVG	QGT	LV	TV	SS
	SEQ ID NO:52																							
V _h 13	QVQLQESGPGLVKPSQTL	SLTCTVSGGSIS	SGGY	YWTWIRQHPGKLEWIG	YIY	SG	TNYP	SLKSRITIS	VDTSKNQ	FSLKSSV	TAADTAVYYCAR	NR	G	F	Y	Y	G	D	WVG	QGT	TV	TV	SS	
	SEQ ID NO:54																							
V _h 14	QVQLQESGPGLVKPSQTL	SLTCTVSGGSIS	SGGY	YWSWIRQHPGKLEWIG	YIY	SG	ST	YYP	SLKSRVTMS	VDTSKNQ	FSLKSSV	TAADTAVYYCAK	NR	G	F	Y	Y	G	D	WVG	QGT	TV	TV	SS
	SEQ ID NO:56																							
V _h 15	QVQLQESGPGLVKPSQTL	SLTCTVSGGSIN	SGGY	YWSWIRQHPGKLEWIG	YIY	SG	SS	YYP	SLKSRVTIS	VDTSKNQ	FSLKSSV	TAADTAVYYCARD	DR	G	H	Y	Y	G	D	WVG	QGT	TV	TV	SS
	SEQ ID NO:58																							
V _h 16	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFS	SYGMH	WVRQAPGKGLEWVA	LIWYDGS	SNKYADSVKGRFTISRDN	SKNTLYLQMN	SLRAEDTAVYYCARE	NT	V	Y	I	Y	Y	Y	G	D	WVG	QGT	TV	TV	SS			
	SEQ ID NO:60																							

Para estos cálculos, los espacios en las alineaciones (si hubiera) pueden dirigirse por un programa de computadora o modelo matemático particular (es decir, un "algoritmo"). Los métodos que pueden usarse para calcular la identidad de los ácidos nucleicos

000077

o polipéptidos alineados incluyen aquellos descritos en Computational Molecular Biology, (Lesk, A. M., ed.), 1988, New York: Oxford University Press; Biocomputing Informatics and Genome Projects, (Smith, D. W., ed.), 1993, New York: Academic Press; Computer Analysis of Sequence Data, Parte I, (Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds.), 1994, New Jersey: Human Press; von Heinje, G., 1987, Sequence Analysis in Molecular Biology, New York: Academic Press; Sequence Analysis Primer, (Gribskov, M. y Devereux, J., eds.), 1991, New York: M. Stockton Press; and Carillo et al., 1988, SIAM J. Applied Math. 48:1073.

Al calcular el porcentaje de identidad, las secuencias que se comparan se alinean en una forma que da el emparejado más grande entre las secuencias. El programa de computadora usado para determinar el porcentaje de identidad es el paquete del programa GCG, que incluye GAP (Devereux et al., 1984, Nucl. Acid Res. 12:387; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI). El algoritmo de computadora GAP se usa para alinear los dos polipéptidos o polinucleótidos para los cuales el porcentaje de identidad de secuencia es para determinarse. Las secuencias se alinean para emparejamiento óptimo de su aminoácido o nucleótido respectivo (el "lapso emparejado", como se determina por el algoritmo). Una penalización de abertura de espacio (que se calcula como 3x la diagonal promedio, en donde la "diagonal promedio" es el promedio de la diagonal de la matriz de comparación que se usa; la "diagonal" es el registro o número asignado a cada emparejado de aminoácido perfecto por la matriz de comparación particular) y una penalización de la extensión de espacio (que es usualmente 1/10 veces la penalización de la

000048

abertura de espacio), así como una matriz de comparación tal como PAM 250 o BLOSUM 62 se usan en conjunto con el algoritmo. En ciertas modalidades, una matriz de comparación estándar (ver, Dayhoff et al., 1978, Atlas of Protein Sequence and Structure 5:345-352 for the PAM 250 comparison matrix; Henikoff et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. E.U.A. 89:10915-10919 for the BLOSUM 62 comparison matrix) también se usa por el algoritmo.

Los parámetros recomendados para determinar el porcentaje de identidad para las secuencias de polipéptidos o nucleótido usando el programa GAP son los siguientes: Algoritmo: Needleman et al., 1970, J. Mol. Biol. 48:443-453; Matriz de comparación: BLOSUM 62 de Henikoff et al., 1992, supra; Penalización de espacio: 12 (pero sin penalización para los espacios finales), Penalización por Longitud de Espacio: 4, Umbral de Similitud: 0. Ciertos esquemas de alineación para alinear dos secuencias de aminoácido pueden resultar en el emparejamiento de únicamente una región corta de las dos secuencias y esta región alineada pequeña puede tener identidad de secuencia muy alta aunque no exista relación importante entre las dos secuencias de longitud completa. En consecuencia, el método para alineación seleccionado (programa GAP) puede ajustarse si así se desea para resultar en una alineación que se extiende al menos 50 aminoácidos contiguos del polipéptido objetivo.

Las regiones variables de cadena ligera y pesada descritas en la presente incluyen secuencias de consenso derivadas de grupos de proteínas enlazadas al antígeno relacionadas. Las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de cadena ligera y pesada se analizaron para similitudes. Cuatro grupos emergentes, un grupo que

000049

tiene regiones variables de cadena ligera kappa, (V_H9/ V_L9, V_H10/ V_L10, V_H11/ V_L11, V_H13/ V_L13, V_H14/ V_L14 y V_H15/ V_L15) y tres grupos que tienen regiones variables de cadena ligera lambda: grupo 1 lambda (V_H5/ V_L5, V_H6/ V_L6 y V_H7/ V_L7), grupo 2 lambda (V_H3/ V_L3 y V_H4/ V_L4), y grupo 3 lambda (V_H1/ V_L1 y V_H2/ V_L2). Las líneas germinales de cadena ligera representadas incluyen VK1/A30 y VK1/L19. Las líneas germinales lambda de cadena ligera representadas incluyen VL1/1e, VL3/3p, VL5/5c y VL9/9a. Las líneas germinales de cadena pesada representadas incluyen VH3/3-30, VH3/3-30.3, VH3/3-33, VH3/3-48, VH4/4-31 y VH4/4-59. Como se usa en la presente, una "secuencia de consenso" se refiere a secuencias de aminoácido que tienen aminoácidos conservados comunes entre un número de secuencias y aminoácidos variables que varían dentro de las secuencias de aminoácido dadas. Las secuencias de consenso pueden determinarse usando analisis filogénicos estándares de las regiones variables de cadena pesada y ligera correspondientes a las proteínas enlazadas al antígeno IL-23 descritas en la presente.

La secuencia de consenso de región variable de cadena ligera para el grupo kappa es

DX₁QX₂TQSPSSVSASVGDRVITICRASQGX₃X₄SX₅WX₆AWYQQKPGX₇APX₈LLIYAASSLQSGVPSRFS GSX₉SGTX₁₀FTLTISLQPX₁₁DFATYX₁₂CQQANSFPFTFGPGTKVDX₁₃K (SEQ ID NO:30)

donde X₁ se selecciona de I o S; X₂ se selecciona de M o L; X₃ se selecciona de G o V y X₄ se selecciona de S, F o I; X₅ se selecciona de S o G; X₆ se selecciona de F o L; X₇ se selecciona de K o Q; X₈ se selecciona de K, N o S; X₉ se selecciona de G o V; X₁₀ se selecciona de D o E, X se selecciona de E o A; X₁₂ se selecciona de Y o F; y X₁₃ se selecciona de I, V o F.

000750

La secuencia de consenso de región variable de cadena ligera
para el grupo 1 lambda es

QPXT₁LTQPPSASASLGASVTLTCTLX₂SGYSDYKVDWYQX₃RPGKGPRFVMRVGTGGX₄VGSKGX₅GI
PDRFSVLGSGLNRX₆LTIKNIQEEDSDYHCGADHGSX₇NFVYVFGTGTKVTVL (SEQ ID

5 NO:61) donde X₁ se selecciona de V o E; X₂ se selecciona de N o S; X₃
se selecciona de Q o L y X₄ se selecciona de I o T; X₅ se selecciona
de D o E; X₆ se selecciona de Y o S; y X₇ se selecciona de S o N.

La secuencia de consenso de región variable de cadena ligera
para el grupo 3 lambda es

10 QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNX₁GAGYDVHWYQQX₂PGTAPKLLIYGSX₃NRPSGVPDRF
SG SKSGTSASLAITGLQAEDEADYCYQSYDSSLGWWFGGGTX₄RLTVL (SEQ ID NO:139)

donde X₁ se selecciona de T o I; X₂ se selecciona de V o L; X₃ se
selecciona de G o N y X₄ se selecciona de R o K.

La secuencia de consenso de región variable de cadena pesada

15 para el grupo kappa es

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSIX₁SGGYWX₂WIRQHPGKGLEWIGX₃IX₄YSGX₅X₆YYNP
SLK SRX₇TX₈SVDTX₉NQFSLX₁₀LSSVTAADTAVYYCAX₁₁X₁₂RGX₁₃YYGMDVWGQGTITVTVSS

(SEQ ID NO:140) en donde X₁ se selecciona de N o S; X₂ se selecciona
de S o T; X₃ se selecciona de Y o H y X₄ se selecciona de Y o H; X₅
20 se selecciona de S o N; X₆ se selecciona de S o T; X₇ se selecciona
de V o I; X₈ se selecciona de I o M; X₉ se selecciona de K o Q; X₁₀
se selecciona de K o S, X₁₁ se selecciona de R o K; X₁₂ se selecciona
de D o N; y X₁₃ se selecciona de H, F o Y.

La secuencia de consenso de la región variable de cadena pesada
para grupo 1 lambda es

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCX₁X₂SGFTFSX₃X₄SMNWVRQAPGKLEWVSYISSX₅SSTX₆YX₇AD
SV KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARRIAAGX₈X₉X₁₀YYYAX₁₁

DVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:141) donde X₁ se selecciona de A o V; X₂ se

000051

selecciona de A o V; X_3 se selecciona de T o S y X_4 se selecciona de Y o F; X_5 se selecciona de S o R; X_6 se selecciona de R o I; X_7 se selecciona de H, Y o I; X_8 se selecciona de P o G; X_9 se selecciona de W o F; X_{10} se selecciona de G o H y X_{11} se selecciona de M o L.

5 La secuencia de consenso de la región variable de cadena pesada para grupo 2 lambda es QVQLVESGGGWQPGRSLRLSCAASGFTFSSYX₁MHWVRQAPGKGLEWX₂X₃VISX₄DGSX₅KYYAD SV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERTTLSGSYFDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 142) donde X_1 se selecciona de G o A; X_2 se selecciona de V o L; 10 X_3 se selecciona de A o S y X_4 se selecciona de F o H y X_5 se selecciona de L o I.

La secuencia de consenso de la región variable de cadena pesada para grupo 3 lambda es QVQLVESGGGWQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKLEWVAVIWDGSDX₁YYADSV KG 15 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGYX₂SSWYPDAFDIWDGQGT MVTVSS (SEQ ID NO: 143) donde X_1 se selecciona de E o K y X_2 se selecciona de T o S.

Regiones que determinan la complementariedad

20 Las regiones que determinan la complementariedad o "CDRs" se incrustan dentro de una estructura en las regiones variables de cadena ligera y pesada donde constituyen las regiones responsables para el enlace y reconocimiento del antígeno. Los dominios variables de cadenas de inmunoglobulina de la misma especie, por ejemplo, generalmente muestran una estructura general similar; que comprende regiones de estructura relativamente conservadas (FR) unidas por regiones CDR hipervariables. Una proteína enlazada al antígeno puede tener 1,

000052

2, 3, 4, 5, 6 o más CDRs. Las regiones variables discutidas arriba, por ejemplo, típicamente comprenden tres CDRs. Las CDRs de regiones variables de cadena pesada y regiones variables de cadena ligera típicamente se alinean por las regiones de estructura para formar una estructura que une específicamente en un anticuerpo objetivo (por ejemplo, IL-23). De regiones variables de cadena ligera y pesada que se presentan naturalmente, de terminal N hasta terminal C ambas típicamente conforman al siguiente orden de estos elementos: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. Las regiones CDR y FR de dominios variables de cadena ligera y dominios variables de cadena pesada ejemplares se destacan en las TABLAS 1 y 2. Se reconoce que los límites de las regiones CDR y FR pueden variar de aquellos destacados. Los sistemas de enumeración se han creado para asignar número a aminoácidos que ocupan posiciones en cada uno de estos dominios. Las regiones que determinan la complementariedad y regiones de estructura de una proteína enlazada al antígeno dada puede identificarse usando estos sistemas. Los sistemas de enumeración se definen en Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5a Ed., US Dept. of Health and Human Services, PHS, NIH, Publicación NIH No. 91-3242, 1991, o Chothia & Lesk, 1987, *J. Mol. Biol.* 196:901-917; Chothia et al., 1989, *Nature* 342:878-883. Otros sistemas de enumeración para los aminoácidos en cadenas de inmunoglobulina incluyen IMGT® (el sistema de información ImMunoGeneTics internacional; Lefranc et al, *Dev. Comp. Immunol.* 2005, 29:185-203); y AHO (Honegger y Pluckthun, *J. Mol. Biol.* 2001, 309(3):657-670). Las CDRs proporcionadas en la presente no pueden únicamente usarse para

000053

definir el dominio enlazado al antígeno de una estructura de anticuerpo tradicional, pero pueden incrustarse en una variedad de otras estructuras de polipéptido, como se describe en la presente.

5 Las proteínas enlazadas al antígeno descritas en la presente son polipéptidos en los cuales una o más CDRs pueden injertarse, insertarse, incrustarse y/o unirse. Una proteína unida al antígeno puede tener, por ejemplo, una CDR1 de cadena pesada ("CDRH1"), y/o una CDR2 de cadena pesada ("CDRH2"), y/o una CDR3
10 de cadena pesada ("CDRH3"), y/o una CDR1 de cadena ligera ("CDRL1"), y/o una CDR2 de cadena ligera ("CDRL2"), y/o una CDR3 de cadena ligera ("CDRL3"). Algunas proteínas de enlace al antígeno incluyen tanto una CDRH3 y una CDRL3. Las modalidades específicas generalmente utilizan combinaciones de CDRs que no
15 son repetitivas, por ejemplo, las proteínas de enlace al antígeno generalmente no se hacen con dos regiones CDRH2 en una región de cadena pesada variable, etc. Las proteínas de enlace al antígeno pueden comprender una o más secuencias de aminoácido que son idénticas a o que difieren de las secuencias de aminoácidos de
20 una o más de las CDRs presentadas en la TABLA 3 en únicamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 residuos de aminoácidos, en donde cada diferencia de secuencia es independientemente ya sea una eliminación, inserción o sustitución de un aminoácido. Las CDRs en algunas proteínas de enlace al antígeno comprenden secuencias de aminoácidos que tienen al menos 80%, 85%, 90%, 91 %, 92, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de identidad de secuencia a la secuencia de CDRs enlistada en la TABLA 3. En algunas proteínas de enlace al

000054

antígeno, las CDRs se incrustan en una región de "estructura", que orienta las CDR(s) de manera que las propiedades enlazadas al antígeno apropiadas de las CDR(s) se alcanzan.

TABLA 3

Secuencias CDRH y CDRL Ejemplares

Secuencias CDRL ejemplares		
CDRL1	CDRL2	CDRL3
TGSSSNTGAGYDVH SEQ ID NO: 62	GSGNRPS SEQ ID NO:63	QSYDSSLSGWV SEQ ID NO: 64
TGSSSNIGAGYDVH SEQ ID NO:65	GSNNRPS SEQ ID NO:66	MIWHSSASV SEQ ID NO:67
TLRSGINVGTYRIY SEQ ID NO:68	YKSDSDKQQGS SEQ ID NO:69	GADHGSGSNFVYV SEQ ID NO:70
TLNSGYSDYKV SEQ ID NO:71	VGTGGIVGSKGD SEQ ID NO:72	GADHGSGNNFVYV SEQ ID NO:73
TLSSGYSDYKV SEQ ID NO:74	VGTGGIVGSKGE SEQ ID NO:75	QQANSFPFT SEQ ID NO:76
RASQGFSGWLA SEQ ID NO:77	VGTGGTVGSKGE SEQ ID NO:78	QQATSFPLT SEQ ID NO:79
RASQVISSWLA SEQ ID NO:80	AASSLQS SEQ ID NO:81	QQADSFPT SEQ ID NO:82
RASQVISSWFA SEQ ID NO:83		LQHNSYPPT SEQ ID NO:84
RASQGSSSWFA SEQ ID NO:85		
RASQGISSWFA SEQ ID NO:86		
RAGQVISSWLA SEQ ID NO:87		
RASQGIAGWLA SEQ ID NO:88		
RASQGIRNDLG SEQ ID NO:89		
Secuencias CDRH ejemplares		
CDRH1	CDRH2	CDRH3
SYGMH SEQ ID NO:91	VIWYDGSNEYADSVKG SEQ ID NO:92	DRGYTSSWYPDAFDI SEQ ID NO:93
SYAMH SEQ ID NO:94	VIWYDGSNKYYADSVKG SEQ ID NO:95	DRGYSSSWYPDAFDI SEQ ID NO:96
TYSMN SEQ ID NO:97	VISFDGSLKYYADSVKG SEQ ID NO:98	ERTTLSGSYFDY SEQ ID NO:99

5	SYSMN SEQ ID NO:100	VISHDGSIKYYADSVKG SEQ ID NO:101	RIAAAGGFHYYYALDV SEQ ID NO:102
	SFSMN SEQ ID NO:103	YISSRSSTIYIADSVKG SEQ ID NO:104	RIAAAGPWGYYYAMDV SEQ ID NO:105
	SGGYYWT SEQ ID NO:106	YISSSSSTRYHADSVKG SEQ ID NO:107	NRGYYYGMDV SEQ ID NO:108
	SGGYYWS SEQ ID NO:109	YISSRSSTIYIADSVKG SEQ ID NO:110	NRGFYYGMDV SEQ ID NO:111
	SYFWS SEQ ID NO:112	YIYYSGNTYYNPSLKS SEQ ID NO:113	DRGHYYGMDV SEQ ID NO:114
	TYYWS SEQ ID NO:115	HIHYSGNTYYNPSLKS SEQ ID NO:116	DRGSYYGSDY SEQ ID NO:117
10		YIYYSGSTYYNPSLKS SEQ ID NO:118	DRGYYYGVDV SEQ ID NO: 119
		YIYYSGSSYYNPSLKS SEQ ID NO:120	ENTVTIYYNYGMDV SEQ ID NO:6
		YIYYSGSTNYNPSLKS SEQ ID NO:121	
		LIYTSGSTNYNPSLKS SEQ ID NO:122	
		LIWYDGSNKYYADSVKG SEQ ID NO: 90	

Se proporcionan en la presente regiones CDR1 que comprenden
 15 residuos de aminoácidos 23-34 de SEQ ID NOs: 7 y 11; residuos de
 aminoácidos 24-34 de SEQ ID NOs: 9, 13, 15, 17, 19 21, 23, 25, 27
 y 29; residuos de aminoácidos 23-36 de SEQ ID NOs: 1, 3 y 4;
 residuos de aminoácidos 31-35 de SEQ ID NOs:31, 33, 34, 38, 40,
 44, 52 y 60 y residuos de aminoácidos 31-37 o SEQ ID NOs: 46, 48,
 20 50, 54, 56 y 58.

Se proporcionan regiones CDR2 que comprenden residuos de
 aminoácidos 50-56 de SEQ ID NOs: 9, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25,
 27 y 29; residuos de aminoácidos 50-61 de SEQ ID NOs: 7 y 11;
 residuos de aminoácidos 52-62 de SEQ ID NO:4; residuos de
 aminoácidos 50-65 de SEQ ID NOs: 31, 33, 44 y 52; residuos de
 aminoácidos 50-66 de SEQ ID NOs: 36, 38, 40, 42 y 60; residuos de
 aminoácidos 52-58 de SEQ ID NOs: 1 y 3 y residuos de aminoácidos
 52-67 de SEQ ID NOs: 46, 48, 50, 54, 56 y 58.

000056

Las regiones CDR3 que comprenden residuos de aminoácidos 89-97 de SEQ ID NOs: 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 y 29; residuos de aminoácidos 91-101 de SEQ ID NOs: 1 y 3; residuos de aminoácidos 94-106 de SEQ ID NOs: 7, 9 y 11; residuos de aminoácidos 98-107 de SEQ ID NOs: 44 y 52; residuos de aminoácidos 97-105 de SEQ ID NO: 4; residuos de aminoácidos 99-110 de SEQ ID NOs: 34 y 36; residuos de aminoácidos 99-112 de SEQ ID NO: 112; residuos de aminoácidos 99-113 de SEQ ID NOs: 31 y 33; residuos de aminoácidos 99-114 de SEQ ID NOs: 38, 40 y 42; residuos de aminoácidos 100-109 de SEQ ID NOs: 46, 48, 54, 56 y 58; y residuos de aminoácidos 101-019 de SEQ ID NO; 50; también se proporcionan.

Las CDRs descritas en la presente incluyen secuencias de consenso derivadas de grupos de secuencias relacionadas. Como se describe previamente, se identificaron cuatro grupos de secuencias de región variable, un grupo kappa y tres grupos lambda. La secuencia de consenso CDRL1 del grupo kappa consiste de RASQX₁X₂SX₃WX₄A (SEQ ID NO:123) donde X₁ se selecciona de G o V; X₂ se selecciona de I, F o S; X₃ se selecciona de S o G y X₄ se selecciona de F o L. La secuencia de consenso CDRL1 del grupo 1 lambda consiste de TLX₁SGYSDYKVD (SEQ ID NO:124) en donde X₁ se selecciona de N o S. Las secuencias de consenso CDRL1 del grupo 3 lambda consiste de TGSSSNX₁GAGYDVH (SEQ ID NO:125) en donde X, se selecciona de I o T.

La secuencia de consenso CDRL2 del grupo 1 lambda consiste de VGTGGX₁VGSKGX₂ (SEQ ID NO: 126) en donde X₁ se selecciona de I o T y X₂ se selecciona de D o E. La secuencia de consenso CDRL2

000057

del grupo 3 lambda consiste de GSX₁NRPS (SEQ ID NO:127) en donde X₁ se selecciona de N o G.

La secuencias de consenso CDRL3 incluyen GADHGSGX₁NFVYV (SEQ ID NO:128) en donde X₁ es S o N.

5 La secuencia de consenso CDRH1 del grupo kappa consiste de SGGYYWX₁ (SEQ ID NO:129) en donde X₁ se selecciona de S o T. La secuencia de consenso CDRH1 del grupo 1 lambda consiste de X₁X₂SMN (SEQ ID NO:131) en donde X₁ se selecciona de S o T y X₂ se selecciona de Y o F. La secuencia de consenso CDRH1 del grupo 2
10 lambda consiste de SYX₁MH (SEQ ID NO:130), en donde X₁ se selecciona de G o A.

La secuencia de consenso CDRH2 del grupo kappa consiste de X₁IX₂YSGX₃X₄YYNPSLKS (SEQ ID NO:132) en donde X₁ se selecciona de Y o H; X₂ se selecciona de Y o H; X₃ se selecciona de S o N y X₄
15 se selecciona de T o S. La secuencia de consenso del grupo 1 lambda consiste de YISSX₁SSTX₂YX₃ADSVKG (SEQ ID NO:134) en donde X₁ se selecciona de R o S, X₂ se selecciona de I o R, X₃ se selecciona de I, H o Y. La secuencia de consenso del grupo 2 lambda consiste de VISX₁DGSX₂KYYADSVKG (SEQ ID NO:133) en donde X₁
20 es F o H y X₂ es L o T. La secuencia de consenso CDRH2 del grupo 3 lambda consiste de VIWYDGSNX₁YYADSVKG (SEQ ID NO:135) en donde X₁ se selecciona de K o E.

La secuencia de consenso CDRH3 del grupo kappa consiste de X₁RGX₂YYGMDV (SEQ ID NO:136) en donde X₁ se selecciona de N o D y X₂ se selecciona de H, Y o F. La secuencia de consenso CDRH3 del grupo 1 lambda consiste de RIAAAGX₁X₂X₃YYYAX₄DV (SEQ ID NO: 137) en donde X₁ se selecciona de G o P; X₂ se selecciona de F o W; X₃ se selecciona de H o G y X₄ se selecciona de L y M. La secuencia

000058

de consenso CDRH3 del grupo 3 lambda consiste de DRGYX₁SSWYPDAFDI (SEQ ID NO:138) en donde X₁ se selecciona de S o T.

Anticuerpos monoclonales

5 Las proteínas de enlace al antígeno que se proporcionan incluyen anticuerpos monoclonales que unen a IL-23. Los anticuerpos monoclonales pueden producirse usando cualquier técnica conocida en la técnica, por ejemplo, al inmortalizar las células de bazo cosechadas del animal transgénico después de la
10 terminación del programa de inmunización. Las células de bazo pueden inmortalizarse usando cualquier técnica conocida en la técnica, por ejemplo, al fusionarlas con células de mieloma para producir hibridomas. Las células de mieloma para uso en procedimientos de fusión que producen hibridoma preferiblemente
15 no producen anticuerpo, tienen eficiencia de fusión alta, y deficiencias de enzima que las vuelven incapaces de crecer en ciertos medios selectivos que soportan el crecimiento de únicamente las células fusionadas deseadas (hibridomas). Los ejemplos de líneas celulares adecuadas para uso en fusiones de
20 ratón incluyen Sp-20, P3-X63/Ag8, P3-X63-Ag8.653, NS1/1.Ag 4 1, Sp210-Ag14, FO, NSO/U, MPC-11, MPC11-X45-GTG 1.7 y S194/5XXO Bui; los ejemplos de líneas celulares usadas en fusiones de rata incluyen R210.RCY3, Y3-Ag 1.2.3, IR983F y 4B210. Otras líneas celulares útiles para fusiones celulares son U-266, GM1500-GRG2, LICR-LON-HMy2 y UC729-6.

En algunos casos, una línea celular de hibridoma se produce por la inmunización de un animal (p. ej., un animal transgénico que tiene secuencias de inmunoglobulina humana) con un inmunógeno

000059

IL-23; recolectando las células del bazo del animal inmunizado; fusionando las células del bazo recolectadas a una línea de células de mieloma, por consiguiente se generan células de hibridomas; se establecen líneas de célula de hibridoma de las células de hibridomas, e identificando una línea celular de hibridoma que produce un anticuerpo que enlaza un polipéptido IL-23 sin afectar a IL-23. Tales líneas de célula de hibridoma, y los anticuerpos anti-IL-23 monoclonales producidos por ellos, son aspectos de la presente solicitud.

Los anticuerpos monoclonales secretados por una línea celular de hibridoma pueden ser purificados mediante cualquier método conocido en la técnica. Los hibridomas o mAbs pueden filtrarse más para identificar los mAbs con propiedades particulares, tales como la capacidad de inhibir la actividad IL-23-inducida.

Los anticuerpos quiméricos y humanizados

También se proporcionan los anticuerpos quiméricos y humanizados basados en las secuencias anteriores. Los anticuerpos monoclonales para su uso como agentes terapéuticos pueden modificarse de diversas maneras antes de su utilización. Un ejemplo es un anticuerpo quimérico, el cual es un anticuerpo compuesto de segmentos de proteínas a partir de anticuerpos diferentes que están enlazados covalentemente para producir cadenas ligeras o pesadas de inmunoglobulina funcional o porciones inmunológicamente funcionales de las mismas. Generalmente, una porción de la cadena pesada y/o cadena ligera es idéntica u homóloga a una secuencia correspondiente de anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen

000060

a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de la(s) cadena (s) es/son idéntica(s) u homóloga(s) a una secuencia correspondiente de anticuerpos derivados de otras especies o pertenecientes a otra clase o subclase de anticuerpos.

5 Para los métodos relativos a los anticuerpos quiméricos, véase, por ejemplo, la Patente de EUA N ° 4,816,567; y Morrison et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. EUA. 81: 6851-6855. El injerto CDR se describe, por ejemplo, en la Patente de EUA números 6,180,370, 5,693,762, 5.693,761, 5,585,089, y 5,530,101.

10 Un tipo útil de anticuerpo quimérico es un anticuerpo "humanizado". Generalmente, un anticuerpo humanizado se produce a partir de un anticuerpo monoclonal producido inicialmente en un animal no humano. Ciertos residuos de aminoácidos en este anticuerpo monoclonal, por lo general de porciones que no
15 reconocen antígenos del anticuerpo, se modifican para que sean homólogas a los residuos correspondientes en un anticuerpo humano de isotipo correspondiente. La humanización puede realizarse, por ejemplo, utilizando diversos métodos mediante la sustitución de al menos una porción de una región variable de roedor para las
20 regiones correspondientes de un anticuerpo humano (véase, por ejemplo, patentes de EUA Núms. 5,585,089, y N ° 5,693,762; Jones et al., 1986, Nature 321:522-525; Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-27; Verhoeven et al., 1988, Science 239:1534-1536).

En ciertas modalidades, las regiones constantes de especies distintas a la humana se pueden utilizar junto con la(s) región(es) humana(s) variable(s) para producir anticuerpos híbridos.

Anticuerpos totalmente humanos

000061

También se proporcionan anticuerpos totalmente humanos. Existen métodos disponibles para la fabricación de anticuerpos específicos totalmente humanos para un antígeno dado sin exponer a los seres humanos al antígeno ("anticuerpos totalmente humanos"). Uno de los medios específicos previstos para la aplicación de la producción de anticuerpos totalmente humanos es la "humanización" del sistema inmunitario humoral del ratón. La introducción de lugares de inmunoglobulina humana (Ig) en ratones en los que los genes endógenos de Ig han sido inactivados es un medio para producir anticuerpos monoclonales totalmente humanos (mAbs) en el ratón, un animal que puede ser inmunizado con cualquier antígeno deseable. Se pueden reducir al mínimo las respuestas inmunogénicas y alérgicas que en ocasiones pueden ser causadas por la administración de mAbs derivado de ratón a los humanos como agentes terapéuticos utilizando anticuerpos totalmente humanos.

Los anticuerpos totalmente humanos pueden ser producidos por inmunización de animales transgénicos (generalmente ratones) que son capaces de producir un repertorio de anticuerpos humanos en ausencia de producción de inmunoglobulina endógena. Los antígenos para este propósito por lo general tienen seis o más aminoácidos contiguos y, opcionalmente, se conjugan con un portador, por ejemplo un hapteno. Véase, por ejemplo, Jakobovits EF. / 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 90:2551 -2555; Jakobovits et al., 1993, Nature 362:255-258; Y EF Bruggermann et al., 1993, Year in Immunol. 07:33. En un ejemplo de tal método, los animales transgénicos son producidos incapacitando los lugares de inmunoglobulina de ratón endógenos que codifican las cadenas de

000062

inmunoglobulina pesada y ligera de ratón en el mismo, y se insertan en los fragmentos del genoma de ratón grandes de ADN del genoma humano que contiene los lugares que codifican las proteínas de cadena pesada y ligera humana. Los animales

5 parcialmente modificados, que tienen menos de la dotación completa de los lugares de inmunoglobulina humana, se cruzan para obtener un animal con todas las modificaciones del sistema inmunitario deseado. Cuando se administra un inmunógeno, estos animales transgénicos producen anticuerpos que son

10 inmunoespecíficos para el inmunógeno pero tienen secuencias más humanas que murinas en los aminoácidos, incluyendo las regiones variables. Para más detalles de estos métodos, véase, por ejemplo, las publicaciones de la OMPI patente W096/33735 y W094/02602. Los métodos adicionales relativos a los ratones

15 transgénicos para producir anticuerpos humanos se describen en la patente de EUA. N ° 5,545,807, 6,713,610, 6,673,986, 6,162,963, 5,545,807, 6,300,129, 6,255,458, 5,877,397, 5,874,299 y 5,545,806, en las publicaciones de la OMPI, patente W091/10741, W090/04036, y en la EP 546073B1 y EP 546073A1.

20 Los ratones transgénicos descritos anteriormente contienen un minilugar de gen humano de inmunoglobulina que codifica las secuencias de inmunoglobulina reordenadas de cadenas humanas pesada y ligera ([MU] y [gamma]) y [kappa], junto con las mutaciones específicas que inactivan los lugares de la cadena endógena [MU] y [kappa] (Lonberg et al., 1994, Nature 368:856-859). En consecuencia, los ratones exhiben una expresión reducida de IgM de ratón o [kappa], y en respuesta a la inmunización, y los transgenes introducidos de cadena pesada y ligera humana

. 000063

experimentan una clase de conmutación y la mutación somática para generar alta afinidad de anticuerpos monoclonales de IgG humana [kappa] (Lonberg et al., supra; Lonberg y Huszar, 1995, Rev. Intern Immunol 13: 65-93; Harding y Lonberg, 1995, Ann N. Y Acad Sci 764:536-546). La preparación de tales ratones se describe en detalle en Taylor et al., 1992, Nucleic Acids Research 20:6287-6295; Chen et al/1993, International Immunology 5:647-656; Tuailon et al., 1994., J. Immunol. 152:2912-2920; Lonberg et al., 1994, Nature 368:856-859; Lonberg, 1994, Handbook of Exo. Pharmacology 113:49-101; Taylor et al., 1994, International Immunology 6:579-591; Lonberg y Huszar 1995, Int. Rev. Immunol. 13:65-93; Harding y Lonberg, 1995, Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:536-546; Fishwild et al., 1996, Nature Biotechnology 14:845-85.. Véase, patentes de Estados Unidos No. 5,545,806, No. 5,569,825, No. 5,625,126, No. 5,633,425, No. 5,789,650, No. 5,877,397, No. 5,661,016; No. 5,814,318, No. 5,874,299 y No. 5,770,429, así como la patente de Estados Unidos No. 5,545,807; OMPI números WO 93/1227, WO 92/22646 y WO 92/03918. Las tecnologías utilizadas para la producción de anticuerpos humanos en estos ratones transgénicos se dan a conocer también en la publicación de la OMPI N ° WO 98/24893, y Méndez et al., 1997, Nature Genetics 15:146-156. Por ejemplo, las cepas de ratones transgénicos HCo7 y HCo12 se puede utilizar para generar anticuerpos anti-IL-23.

Usando la tecnología de hibridoma, los antígenos específicos de los mAbs humanos con la especificidad deseada pueden ser producidos y seleccionados de los ratones transgénicos, tales como los descritos de manera anterior. Dichos anticuerpos pueden ser clonados y expresados mediante un vector adecuado y la célula

hospedera, o los anticuerpos pueden cosecharse a partir de células de hibridoma cultivadas.

Los anticuerpos totalmente humanos también pueden derivarse de bibliotecas de despliegue de fagos (tal como se describe en
5 Hoogenboom et al., 1991, J. Mol Biol. 227:381; Marks et al., 1991, J. Mol Biol. 222:581; publicación de la OMPI N ° WO 99/10494). Las técnicas de despliegue de fagos imitan la selección inmune a través de la muestra de los repertorios de anticuerpos en la superficie del bacteriófago filamentoso, y la
10 selección subsiguiente de fagos por su enlace a un antígeno de elección.

Proteínas enlazadas al antígeno bifuncional o bioespecífico

Una proteína o anticuerpo de enlace antígeno
15 "bioespecífico", "de doble específico" o "bifuncional" es una proteína o anticuerpo de enlace a antígeno, respectivamente, que tiene dos sitios antígenos de enlace diferentes, tales como una o más CDRs o una o más regiones variables como se ha descrito anteriormente. En algunos casos son un anticuerpo artificial
20 híbrido que tiene dos pares diferentes de la cadena pesada/ligera y dos sitios de enlace distintos. La proteína de enlace del antígeno multiespecífico o "anticuerpo multiespecífico" es una que se dirige a más de un antígeno o epítipo. Las proteínas enlazadas al antígeno bioespecíficas y los anticuerpos son una especie de anticuerpo de proteína de enlace al antígeno multiespecífica y puede ser producida por una variedad de métodos que incluyen, pero no se limitan a, la fusión de hibridomas o el enlace de fragmentos Fab. Véase, por ejemplo, Songsivilai y

Lachmann, 1990, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321; Kostelny et al., 1992, J. Immunol. 148:1547-1553.

Fragmentos inmunológicos

Las proteínas enlazadas al antígeno incluyen también
5 fragmentos inmunológicos de un anticuerpo (por ejemplo, un Fab, un Fab', un F (ab')₂, o un scFv). Un "fragmento Fab" está compuesto por una cadena ligera (la región variable de cadena ligera (V_L) y su dominio correspondiente constante (C_L)) y una cadena pesada (la región variable de cadena pesada (V_H) y el
10 primer dominio constante (C_{H1})). La cadena pesada de una molécula Fab no puede formar un enlace disulfuro con otra molécula de cadena pesada. Un "fragmento Fab'" contiene una cadena ligera y una porción de una cadena pesada que también contiene la región entre los dominios C_{H1} y C_{H2}, de tal manera
15 que un enlace disulfuro intercatenario puede formarse entre las dos cadenas pesadas de los fragmentos Fab para formar una molécula F (ab')₂. Un "fragmento F (ab')₂" por lo tanto se compone de dos fragmentos Fab' que se mantienen unidos por un enlace disulfuro entre las dos cadenas pesadas. Un "fragmento Fv"
20 consiste de la región variable de cadena ligera y la región variable de cadena pesada de un solo brazo de un anticuerpo. Los anticuerpos de cadena sencilla "scFv" son moléculas de Fv en el que las regiones de cadena pesada y ligera variables han sido conectadas por una ligadura flexible para formar una sola cadena polipeptídica, que forma una región de enlace al antígeno. Los anticuerpos de cadena simple se discuten en detalle en la publicación de la OMPI No. WO 88/01649, Patentes de EUA. números 4,946,778 y 5,260,203; Bird, 1988, Sci. 242:423; Huston et al.,

. 000066

1988, Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 85:5879, Ward et al., 1989, Nature 334:544, de Graaf et al., 2002, Methods Mol. Biol. 178:379-387; Kortt et al., 1997, Prot. Eng. 10:423; Kortt et al., 2001, Biomol. Eng. 18:95-108 y Kriangkum et al., 2001, Biomol.

5 Eng. 18:31 -40. Una región "Fc" contiene dos fragmentos de cadenas pesadas que comprenden los dominios C_{H1} y C_{H2} de un anticuerpo. Los dos fragmentos de cadena pesada se mantienen unidos por dos o más enlaces disulfuro y por interacciones hidrófobas de los dominios C_{H3} .

10 También se incluyen los anticuerpos de dominio, que son fragmentos inmunológicamente funcionales de inmunoglobulina que contienen sólo la región variable de una cadena pesada o la región variable de una cadena ligera. En algunos casos, dos o más regiones V_H están unidas covalentemente con un péptido conector

15 para crear un anticuerpo de dominio bivalente. Las dos regiones V_H de un anticuerpo de dominio bivalente pueden orientarse a los mismos antígenos u otros diferentes. Los diacuerpos son anticuerpos bivalentes que contienen dos cadenas de polipéptidos, donde cada cadena polipeptídica comprende los dominios V_H y V_L

20 unidos por un conector que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre dos dominios en la misma cadena, permitiendo así que cada dominio haga par con un dominio complementario en otra cadena polipeptídica (véase, por ejemplo, Holliger y col., Proc. Natl. Acad. Sci. EUA. 90:6444-48, 1993 y Poljak et al., Structure 2:01 121 -23, 1994). De manera similar, los tricuerpos y los tetracuerpos son anticuerpos que comprenden tres y cuatro cadenas polipeptídicas, respectivamente, y forman tres y cuatro sitios de enlace al antígeno, respectivamente, que pueden ser

000067

iguales o diferentes. Los maxicuerpos comprenden scFvs bivalentes covalentemente relacionados a la región Fc de la IgG₁ (véase, por ejemplo, Fredericks et al., 2004, Protein Engineering Design & Selection, 17:95-106. Powers et al., 2001, Journal of Immunological Methods, 251:123-135; Shu et al., 1993, Proc Natl Acad Sci EUA 90:7995-7999; Hayden et al., 1994, Therapeutic Immunology 1:3-15).

Otras formas diversas

También se proporcionan formas variantes de las proteínas enlazadas al antígeno descrito anteriormente, algunas de las proteínas enlazadas al antígeno tienen, por ejemplo, una o más sustituciones conservadoras de aminoácidos en una o más de las cadenas pesadas o ligeras, las regiones variables o CDRs enumerados en las Tablas 1 y 2.

Los aminoácidos que se producen de manera natural se pueden dividir en clases basadas en las propiedades comunes de cadenas laterales hidrófobas: (norleucina, Met, Ala, Val, Leu, He); hidrófilo neutro (Cys, Ser, Thr, Asn, Gln); ácidos (Asp, Glu); básicos (His, Lys, Arg); residuos que influyen en la orientación de la cadena (Gly, Pro); y aromáticos (Trp, Tyr, Phe).

Las sustituciones conservadoras de aminoácidos pueden implicar el intercambio de un miembro de una de estas clases con otro miembro de la misma clase. Las sustituciones conservadoras de aminoácidos pueden abarcar residuos de aminoácidos que no se producen de manera natural, los cuales se incorporan generalmente mediante la síntesis química de péptidos en lugar de hacerlo por medio de síntesis en los sistemas biológicos. Estos incluyen peptidomiméticos y otras formas invertidas o reservadas de

porciones de aminoácidos. Tales modificaciones sustanciales en las características funcionales y/o bioquímicas de las proteínas enlazadas al antígeno que se describen en este documento pueden lograrse mediante la creación de sustituciones en la secuencia de aminoácidos de las cadenas pesada y ligera que difieren significativamente en su efecto manteniendo (a) la estructura del esqueleto molecular en la zona de la sustitución, por ejemplo, como una conformación en hoja o helicoidal, (b) la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio destino, o (c) el volumen de la cadena lateral.

Las sustituciones no conservativas pueden implicar el intercambio de un miembro de una de las clases anteriores para un miembro de otra clase. Tales residuos sustituidos pueden ser introducidos en las regiones del anticuerpo que sean homólogas con anticuerpos humanos, o en las regiones no homólogas de la molécula.

Al hacer tales cambios, de acuerdo con ciertas modalidades, puede considerarse el índice hidropático de aminoácidos. El perfil hidropático de una proteína se calcula mediante la asignación de un valor numérico a cada aminoácido ("índice de hidropatía") y, a continuación se realiza repetidamente un promedio de estos valores a lo largo de la cadena peptídica. A cada aminoácido se le ha asignado un índice hidropático sobre la base de su hidrofobicidad y características de carga. Estos son: isoleucina (+4.5); valina (+4.2); leucina (+3.8); fenilalanina (+2.8); cisteína/cistina (+2.5); metionina (+1.9), alanina (+1.8); glicina (-0.4); treonina (-0.7); serina (-0.8); triptófano (-0.9); tirosina (-1.3); prolina (-1.6); histidina (-

. 000069

3.2); glutamato (-3.5); glutamina (-3.5); aspartato (-3.5); asparagina (-3.5); lisina (-3.9) y arginina (-4.5).

La importancia del perfil hidropático al conferir la función biológica interactiva en una proteína se entiende en la técnica (véase, por ejemplo, en Kyte et al., 1982, J. Mol. Biol. 157:105-131). Se sabe que ciertos aminoácidos pueden ser sustituidos por otros aminoácidos que tienen un índice hidropático similar o puntuación y que aún retienen una actividad biológica similar. Al hacer cambios basados en el índice hidropático, en ciertas modalidades, la sustitución de aminoácidos cuyos índices hidropáticos están dentro de ± 2 está incluida. En algunos aspectos, las que están dentro de ± 1 se incluyen, y en otros aspectos, los que están dentro de ± 0.5 están incluidas.

También se entiende en la técnica que la sustitución de aminoácidos similares se puede hacer eficazmente sobre la base de hidrofilia, particularmente donde la proteína o péptido biológicamente funcional así creada se destina para su uso en modalidades inmunológicas, como en el presente caso. En ciertas modalidades, la mayor hidrofilicidad local promedio de una proteína, que se rige por la hidrofilicidad de sus aminoácidos adyacentes, se correlaciona con su inmunogenicidad y el enlace al antígeno o inmunogenicidad, es decir, con una propiedad biológica de la proteína.

Los siguientes valores de hidrofilicidad se han asignado a estos residuos de aminoácidos: arginina (+3.0); lisina (+3.0); aspartato (+3.0 $\pm$ 1); glutamato (+3.0 $\pm$ 1); serina (+0.3); asparagina (+0.2); glutamina (+0.2); glicina (0); treonina (-0.4); prolina (-0.5 $\pm$ 1); alanina (-0.5); histidina (-0.5);

. 000070

cisteína (-1.0); metionina (-1.3); valina (-1.5); leucina (-1.8); isoleucina (-1.8); tirosina (-2.3); fenilalanina (-2.5) y triptófano (-3.4). Al hacer cambios basados en valores de hidrofili-
cidad similares, en ciertas modalidades, la sustitución de aminoácidos cuyos valores de hidrofili-
cidad están dentro de ± 2 está incluida, en otras modalidades, las cuales están dentro de ± 1 se incluyen, y en otras modalidades, aquellos dentro de ± 0.5 están incluidas. En algunos casos, también se pueden identificar epítopos de secuencias primarias de aminoácidos sobre la base de hidrofili-
cidad. Estas regiones son también conocidas como "regiones centrales epitópicas".

Los ejemplos de sustituciones conservadoras de aminoácidos se indican en la TABLA 4.

TABLA 4

Sustituciones conservadoras de aminoácidos

Residuo	Sub	Residuo	Sub	Residuo	Sub	Residuo	Sub
Ala	Ser	Gln	Asn	Leu	Ile, Val	Thr	Ser
Arg	Lys	Glu	Asp	Lys	Arg, Gln, Glu	Trp	Tyr
Asn	Gln,	Gly	Pro	Met	Leu, Ile	Tyr	Trp,
	His						Phe
Asp	Glu	His	Asn, Gln	Phe	Met, Leu, Tyr	Val	Ile, Leu
Cys	Ser	Ile	Leu, Val	Ser	Thr	Thr	Ser

Residuo: Residuo Original Sub = Sustitución Ejemplar

Un experto en la técnica será capaz de determinar las variantes de polipéptidos adecuados como las aquí establecidas

utilizando técnicas bien conocidas. El experto en la técnica puede identificar las zonas adecuadas de la molécula que pueden cambiarse sin destruir actividad fijando como objetivo las regiones que se crea no son importantes para la actividad. El
5 experto en la técnica también será capaz de identificar los residuos y las porciones de las moléculas que se conservan entre los polipéptidos similares. En futuras modalidades, incluso en áreas que pueden ser importantes para la actividad biológica o la estructura pueden estar sujetas a sustituciones de aminoácidos
10 conservadoras, sin destruir la actividad biológica o sin afectar negativamente a la estructura polipeptídica.

Además, el experto en la técnica puede revisar estudios de estructura-función identificando residuos en polipéptidos similares que son importantes para la actividad o estructura. En
15 vista de tal comparación, se puede predecir la importancia de los residuos de aminoácidos en una proteína que corresponden a residuos de aminoácidos importantes para la actividad o la estructura de las proteínas similares. El experto en la técnica puede optar por sustituciones de aminoácido químicamente
20 similares para tales residuos predichos de aminoácido importantes.

El experto en la técnica también puede analizar la estructura tridimensional y la secuencia de aminoácidos en relación a dicha estructura en polipéptidos similares. A la vista de dicha información, el experto en la técnica puede predecir la posible alineación de los residuos de aminoácidos de un anticuerpo con respecto a su estructura tridimensional. El experto en la técnica puede elegir no hacer cambios radicales en

000072

los residuos de aminoácidos que se prevé estén en la superficie de la proteína, ya que dichos residuos pueden estar implicados en importantes interacciones con otras moléculas. Además, el experto en la técnica puede generar variantes de ensayo que contienen una
5 única sustitución de aminoácido en cada residuo aminoácido deseado. Estas variantes pueden entonces ser examinadas mediante ensayos para la actividad IL-23, (ver ejemplos más abajo), de este modo la información sobre el rendimiento en cuanto a cuales aminoácidos se puede cambiar y cuáles no, debe ser cambiada. En
10 otras palabras, basándose en la información obtenida a partir de experimentos de rutina, los expertos en la técnica puede determinar fácilmente las posiciones de los aminoácidos en donde deben evitarse sustituciones futuras ya sea solas o en combinación con otras mutaciones.

15 Un número de publicaciones científicas se ha dedicado a la predicción de estructura secundaria. Véase, Moulton, 1996, Curr. Op. In Biotech. 7:422-427; Chou et al., 1974, Biochem. 13:222-245; Chou et al., 1974, Biochemistry 113:21 1-222; Chou et al., 1978, Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. 47:45-148; Chou et
20 al., 1979, Ann. Rev. Biochem. 47:251 -276, y EF Chou et al., 1979, Biophys. J. 26:367-384. Por otra parte, los programas de computadora están disponibles actualmente para ayudar en la predicción de la estructura secundaria. Un método de predicción de la estructura secundaria se basa en el modelado de homología. Por ejemplo, dos polipéptidos o proteínas que tienen una identidad de secuencia de más de 30%, o mayor similitud del 40%, por lo general poseen topologías estructurales similares. El reciente crecimiento de la base de datos de proteínas

000073

estructurales (AP) ha proporcionado una mayor previsibilidad de la estructura secundaria, incluyendo el número potencial de pliegues dentro de una estructura de polipéptido o proteína. Véase, Holm et al., 1999, Nucl. Acid. Res. 27:244-247. Se ha sugerido (Brenner et al. 1997, Curr. Operative. Struct. Biol. 7:369-376) que hay un número limitado de pliegues en una determinada proteína o polipéptido y que una vez que un número crítico de las estructuras ha sido resuelto, la predicción estructural será dramáticamente más precisa.

Otros métodos de predicción de estructura secundaria incluyen la "formación de hebra" (Jones, 1997, Curr Opin Struct Biol. 7:377-387; Sippl et al., 1996, Structure 4:15-19), "Análisis del perfil" (Bowie et al., 1991, Science 253:164-170; Gribskov et al., 1990, Meth Enzym 183:146-159; Gribskov et al., 1987, Proc Nat Acad Sci 84:4355-4358), y "la vinculación de la evolución" (Véase, Holm, 1999, supra, y Brenner, 1997, supra).

En algunas modalidades, las sustituciones de aminoácidos están hechas de manera que: (1) Se reduzca la susceptibilidad a la proteólisis, (2) se reduzca la susceptibilidad a la oxidación, (3) se altere la afinidad de enlace para formar complejos de proteínas, (4) se alteren las afinidades de enlace del ligando o antígeno, y/o (4) se confieran o modifiquen otras propiedades fisicoquímicas o funcionales en dichos polipéptidos, tales como mantener la estructura del esqueleto molecular en el área de la sustitución, por ejemplo, una conformación en hoja o helicoidal; mantener o alterar la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio destino, o el mantenimiento o la alteración de la voluminosidad de una cadena lateral.

000074

Por ejemplo, las sustituciones de aminoácidos simples o múltiples (en ciertas modalidades, las sustituciones conservadoras de aminoácidos) pueden ser realizadas en la secuencia de origen natural. Las sustituciones se pueden hacer en la porción del anticuerpo que se encuentra fuera del dominio (s) que forman los contactos intermoleculares). En tales modalidades, las sustituciones conservadoras de aminoácidos pueden utilizarse para que no cambien sustancialmente las características estructurales de la secuencia de matriz (por ejemplo, uno o más aminoácidos de sustitución que no perturben la estructura secundaria que caracteriza a la matriz o la proteína enlazada al antígeno nativo). Ejemplos de las estructuras secundaria y terciaria de polipéptidos reconocidas en la técnica se describen en *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, ed.), 1984, WH Nueva York: Freeman and Company, *Introduction to Protein Structure* (Branden y Tooze, eds.), 1991, Nueva York: Garland Publishing, y Thornton et al., 1991, *Nature* 354:105.

Las variantes adicionales incluyen variantes de cisteína en los que uno o más residuos de cisteína en la matriz o la secuencia de aminoácidos nativa se eliminan o se sustituyen por otro aminoácido (por ejemplo, serina). Las variantes de cisteína son útiles, entre otras cosas cuando los anticuerpos (por ejemplo) deben ser replegados en una conformación biológicamente activa. Las variantes de cisteína pueden tener menos residuos de cisteína que la proteína nativa, y por lo general tienen un número par para minimizar las interacciones resultantes de cisteínas no apareadas.

000075

La región variable de cadena pesada y ligera y CDR que se describen pueden utilizarse para preparar proteínas enlazadas al antígeno que contienen una región de enlace antígeno que se puede unir específicamente a un polipéptido IL-23. La "región que
5 enlaza al antígeno" significa una proteína, o una porción de una proteína, que se enlaza específicamente a un antígeno específico, como el área que contiene los residuos de aminoácidos que interactúan con un antígeno y confiere a la proteína enlazada al antígeno su especificidad y afinidad por el antígeno destino. Una
10 región de enlace antígeno puede incluir una o más CDRs y ciertas áreas de enlace antígeno también incluyen una o más regiones "marco". Por ejemplo, una o más de las CDRs enumeradas en la Tabla 3 se pueden incorporar en una molécula (por ejemplo, un polipéptido) covalentemente o no covalentemente para hacer una
15 inmunoadhesión. Un inmunoadhesión puede incorporar la CDR (s) como parte de una cadena más grande polipéptida, o puede enlazar covalentemente la CDR (s) a otra cadena polipeptídica, o puede incorporar la CDR (s) de manera no covalente. La CDR (s) permite la inmunoadhesión para unirse específicamente a un antígeno
20 particular de interés (por ejemplo, un polipéptido IL-23).

Otras proteínas enlazadas al antígeno incluyen miméticas (por ejemplo, "péptidos miméticos" o "Peptidomiméticos") sobre la base de las regiones variables y CDRs que se describen en este documento. Estos análogos pueden ser péptidos, no-péptidos o combinaciones de las regiones peptídicas y no péptido. Fauchere, 1986, Adv. Drug Res. 15:29; Veber y Freidinger, 1985, TINS. p. 392; y Evans et al., 1987, J. Med. Chem. 30:1229. Los miméticos de péptidos que son estructuralmente similares a los péptidos

terapéuticamente útiles pueden usarse para producir un efecto similar terapéutico o profiláctico. Tales compuestos se han desarrollado con la ayuda de un modelado molecular computarizado. Generalmente, los peptidomiméticos son proteínas estructuralmente similares a una proteína enlazada al antígeno que muestra una actividad biológica deseada, tales como la capacidad de enlazar a la IL-23, pero los peptidomiméticos tienen uno o más enlaces peptídicos opcionalmente sustituidos por un enlace seleccionado de, por ejemplo: -CH₂NH-, -CH₂S-, -CH₂-CH₂-, -CH-CH- (cis y trans), -COCH₂ -, -CH(OH)CH₂-, y -CH₂SO- , por medio de métodos bien conocidos en la técnica. La sustitución sistemática de uno o más aminoácidos de una secuencia de consenso con un D-aminoácido del mismo tipo (por ejemplo, D-lisina en lugar de L-lisina) se pueden utilizar en ciertas modalidades para generar proteínas más estables. Además, los péptidos limitados que comprenden una secuencia de consenso o una variación de la secuencia consenso sustancialmente idéntica pueden ser generados por métodos conocidos en la técnica (Rizo y Gierasch, 1992, Ann Rev. Biochem 61: 387), por ejemplo, mediante la adición de residuos de cisteína interna capaces de formar puentes de disulfuro intramoleculares los cuales ciclan el péptido.

También se proporcionan los derivados de las proteínas enlazadas al antígeno que se describen en este documento. Las proteínas derivadas enlazadas al antígeno pueden comprender cualquier molécula o sustancia que imparte una propiedad deseada a la proteína enlazada al antígeno o fragmento, tales como aumento de vida media en un uso particular. La proteína enlazada al antígeno derivada puede comprender, por ejemplo, una porción

detectable (o etiquetado) (por ejemplo, un radiactivo, antigénico colorimétrico, o molécula enzimática, una perla detectable (por ejemplo, una perla magnética o electrodensa (por ejemplo, oro), o una molécula que se enlaza a otra molécula (por ejemplo, biotina o estreptavidina)), una fracción terapéutica o de diagnóstico (por ejemplo, un resto radioactivo, citotóxico, o farmacéuticamente activo), o una molécula que aumenta la aptitud de la proteína enlazada al antígeno para un determinado uso (por ejemplo, la administración a un sujeto, tal como un sujeto humano, u otros usos *in vivo* o *in vitro*). Los ejemplos de moléculas que pueden ser utilizadas para derivar una proteína enlazada al antígeno incluyen albúmina (por ejemplo, albúmina de suero humano) y polietilenglicol (PEG). Los derivados de albúmina-enlazados y PEGilados de las proteínas enlazadas al antígeno pueden prepararse usando métodos bien conocidos en la técnica. En una modalidad, la proteína enlazada al antígeno está conjugada o de otra forma conectada a la transtiretina (TTR) o una variante TTR. La variante TTR o TTR se puede modificar químicamente con, por ejemplo, una sustancia química seleccionada del grupo que consta de dextrano, poli(N-vinil pirrolidona), glicoles de polietileno, homopolímeros de propilenglicol, copolímeros de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polioles polioxietilados y alcoholes de polivinilo.

Otros derivados incluyen conjugados covalentes o agregados de las proteínas enlazadas al antígeno IL-23 con otras proteínas o polipéptidos, como la expresión de proteínas de fusión recombinante que comprenden polipéptidos heterólogos fusionados a la N-terminal o C-terminal de una proteína IL-23 de enlace al

000078

antígeno. Por ejemplo, el péptido conjugado puede ser un polipéptido de señal heteróloga (o líder), por ejemplo, el líder factor alfa de levadura, o un péptido como una etiqueta de epítipo. Una proteína enlazada al antígeno IL-23 que contiene proteínas de fusión puede comprender péptidos añadidos para facilitar la purificación o identificación de la proteína enlazada al antígeno IL-23 (por ejemplo, poli-His). Una proteína enlazada al antígeno IL-23 también puede estar relacionada con el péptido FLAG como se describe en Hopp et al., 1988, Bio/Technology 6:1204; y la Patente de EUA N ° 5,011,912. El péptido FLAG es altamente antigénico y proporciona un epítipo unido reversiblemente por medio de un anticuerpo monoclonal específico (MAB), permitiendo un ensayo rápido y la purificación fácil de la proteína recombinante expresada. Los reactivos útiles para la preparación de proteínas de fusión en el que se fusiona el péptido FLAG con un polipéptido dado se encuentran comercialmente disponibles (Sigma, St. Louis, MO).

Los oligómeros que contienen una o más proteínas enlazadas al antígeno IL-23 pueden emplearse como antagonistas de IL-23. Los oligómeros pueden ser en forma de dímeros covalentemente ligados o no covalentemente enlazados, trímeros, oligómeros o superiores. Los oligómeros que comprenden dos o más proteínas enlazadas al antígeno IL-23 de unión se contemplan para su uso, con un ejemplo siendo un homodímero. Otros incluyen oligómeros heterodímeros, heterotrímeros y homotrímeros, homotetrámeros, los heterotetrámeros, etc. También se incluyen los oligómeros que comprenden múltiples proteínas de enlace IL-23 unidas vía covalente o no covalente entre porciones peptídicos fusionados a

las proteínas enlazadas al antígeno IL-23. Tales péptidos pueden ser ligaduras peptídicas (espaciadores), o péptidos que tienen la propiedad de promover oligomerización. Entre las ligaduras peptídicas adecuados están las descritas en la patente de EUA N ° 4,751,180 y 4935233. Las cremalleras de leucina y ciertos polipéptidos derivados de anticuerpos se encuentran entre los péptidos que pueden promover la oligomerización de las proteínas enlazadas al antígeno IL-23 unidas a ello. Los ejemplos de dominios de cremallera de leucina adecuados para la producción de proteínas oligoméricas solubles se describen en la publicación de la OMPI N ° WO 94/10308; Hoppe et al., 1994, FEBS Letters 344:191; y Fanslow et al., 1994, Semin. Immunol. 6:267-278. En un método, las proteínas de fusión recombinantes que comprenden un fragmento de la proteína de enlace antígeno IL-23 o derivado fusionado a un péptido cremallera de leucina se expresan en células huésped adecuadas, y los fragmentos o derivados de proteína enlazada al antígeno IL-23 soluble oligomérico que se forman se recuperan del sobrenadante de cultivo.

Tales oligómeros pueden comprender de dos a cuatro proteínas enlazadas al antígeno IL-23. Las porciones de proteína enlazada al antígeno del oligómero pueden estar en cualquiera de las formas descritas anteriormente, por ejemplo, variantes o fragmentos. De manera preferente, los oligómeros comprenden proteínas enlazadas al antígeno IL-23 que tienen la actividad de enlace IL-23. Los oligómeros se pueden preparar utilizando los polipéptidos derivados de inmunoglobulinas. Se ha descrito la preparación de las proteínas de fusión que comprenden ciertos polipéptidos heterólogos fusionados a diversas porciones de

derivados de anticuerpos polipéptidos (incluyendo el área Fc), por ejemplo, por Ashkenazi et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. EUA. 88:10535; Byrn et al., 1990, Nature 344:677; y Hollenbaugh et al., 1992 "La construcción de las proteínas de fusión de inmunoglobulina", en Current Protocols in Immunology, Supl.. 4, 5 páginas 10.19.1-10.19.1 1.

También se incluyen los dímeros que comprenden dos proteínas de fusión creadas por la fusión de una proteína enlazada al antígeno de la región Fc de un anticuerpo. El dímero se puede 10 realizar, por ejemplo, insertando un gen de fusión que codifica la proteína de fusión en un vector de expresión apropiado, expresando el gen de fusión en las células huésped transformadas con el vector de expresión recombinante, y permitiendo que la proteína de fusión expresada se ensamble como moléculas de 15 anticuerpo, con lo cual los enlaces disulfuro entre cadenas se forman entre las porciones de Fc para producir el dímero. Tales polipéptidos Fc incluyen formas nativas y de mutación de polipéptidos derivados de la región Fc de un anticuerpo. Las formas truncadas de tales polipéptidos que contienen la región de 20 bisagra que promueve la dimerización también están incluidas. Las proteínas de fusión que comprenden porciones (Fc y oligómeros formados del mismo) ofrecen la ventaja de purificación fácil mediante cromatografía de afinidad sobre columnas de proteína A o proteína G. Un polipéptido Fc adecuado, que se describe en la Publicación OMPI No. WO 93/10151 y Patentes de los EUA Núm. 5,426,048 y 5,262,522, es un polipéptido de cadena simple que se extiende desde la región N-terminal de bisagra a la nativa C-terminal de la región Fc de un anticuerpo IgG1 humano. Otro

000081

polipéptido Fc útil es la muteína Fc que se describe en la Patente de EUA No 5,457,035, y en Baum y et al., 1994, EMBO J. 13:3992-4001. La secuencia de aminoácidos de esta muteína es idéntica a la de la secuencia nativa Fc presentada en la
5 Publicación de la OMPI No. WO 93/10151, excepto en que el aminoácido 19 ha sido cambiado de Leu a Ala, el aminoácido 20 ha sido cambiado de Leu a Glu, y el aminoácido 22 ha sido cambiado de Gly a Ala. La muteína muestra afinidad reducida para los receptores Fc.

10 La proteína enlazada al antígeno puede tener un patrón de glicosilación que es diferente o modificado al que se encuentra en las especies nativas. Como es sabido en la técnica, los patrones de glicosilación pueden depender tanto de la secuencia de la proteína (por ejemplo, la presencia o ausencia de residuos
15 de aminoácidos particulares de glicosilación, discutido más adelante), o de la célula huésped u organismo en el que se produce la proteína. Los sistemas particulares de expresión se discuten a continuación.

20 Por lo general, la glicosilación de polipéptidos es N-enlazado u O-enlazado. N-enlazado se refiere a la unión del resto de carbohidratos a la cadena lateral de un residuo de asparagina. Las secuencias de tri-péptido asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, donde X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática de la fracción de carbohidratos a la cadena lateral de asparagina. De esta manera, la presencia de cualquiera de estas secuencias de tri-péptido en un polipéptido crea un sitio de glicosilación potencial. La glicosilación ligada a O se refiere a la unión de

uno de los azúcares N-acetilgalactosamina, galactosa, o xilosa, a un hidroxiamino ácido, más comúnmente serina o treonina, aunque también puede utilizarse 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina.

La adición de sitios de glicosilación a la proteína enlazada al antígeno se realiza convenientemente mediante la alteración de la secuencia de aminoácidos de manera que contenga una o más de las secuencias anteriormente descritas de tri-péptidos (para los sitios de glicosilación ligados a N). La alteración también puede hacerse mediante la adición de, o la sustitución por uno o más residuos de serina o treonina a la secuencia de arranque (para los sitios de glicosilación ligados a O). Para mayor facilidad, la secuencia de aminoácidos de proteína enlazada al antígeno puede ser alterada por cambios en el nivel del ADN, en particular mediante la mutación del ADN que codifica el polipéptido de destino en las bases preseleccionadas de manera que se generan los codones que se traducirán en los aminoácidos deseados.

Otro medio para aumentar el número de porciones de carbohidrato en la proteína enlazada al antígeno es por acoplamiento químico o enzimático de glicósidos a la proteína. Estos procedimientos son ventajosos porque no requieren la producción de la proteína en una célula huésped que tiene capacidades para la glicosilación ligada a N y glicosilación ligada a O. Dependiendo del modo de acoplamiento utilizado, el azúcar (s) puede estar unido a (a) arginina e histidina, (b) grupos carboxilo libres, (c) grupos sulfhidrilo libres tales como los de cisteína, (d) grupos hidroxilo libres, tales como los de serina, treonina, o hidroxiprolina, (e) los residuos aromáticos tales como los de fenilalanina, tirosina, triptófano, o (f) el

000083

grupo amida de la glutamina. Estos métodos se describen en la publicación PCT número WO 87/05330, y en Aplin y Wriston, 1981, CRC Crit. Rev, Biochem., Pp 259-306.

La eliminación de porciones de carbohidratos presentes en la proteína enlazada al antígeno de partida puede efectuarse de manera química o enzimática. La desglicosilación química requiere la exposición de la proteína en el ácido trifluorometanosulfónico compuesto, o un compuesto equivalente. Este tratamiento da como resultado la escisión de la mayoría o todos los azúcares, excepto el azúcar de enlace (N-acetilglucosamina o N-acetilgalactosamina), mientras que deja intacto el polipéptido. La desglicosilación química está descrita por Hakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259:52 y por Edge et al., 1981, Anal. Biochem. 118:131. La escisión enzimática de porciones de carbohidrato en polipéptidos se puede lograr mediante el uso de una variedad de endo y exo-glicosidasas como lo describe Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol. 138:350. La glicosilación en sitios de glicosilación potenciales puede prevenirse mediante el uso de la tunicamicina compuesto descrito por Duskin et al., 1982, J. Biol. Chem. 257:3105. La tunicamicina bloquea la formación de enlaces proteína-N-glucósido.

Por lo tanto, los aspectos incluyen variantes de glicosilación de las proteínas enlazadas al antígeno en el que el número y/o el tipo de sitio de glicosilación (s) han sido alterados en comparación con las secuencias de aminoácidos de la matriz de polipéptidos. En ciertas modalidades, las variantes de la proteína enlazada al antígeno comprenden una mayor o un menor número de sitios de glicosilación ligada a N que el polipéptido

precursor. Las sustituciones que eliminen o alteren esta secuencia evitarán la adición de una cadena de carbohidratos N-enlazado presente en el polipéptido precursor. Por ejemplo, la glicosilación puede reducirse mediante la supresión de una Asn o
5 sustituyendo la Asn con un aminoácido diferente. Los anticuerpos tienen por lo general un sitio de glicosilación ligada a N en la región Fc.

Etiquetas y los grupos efectores

Las proteínas enlazadas al antígeno pueden comprender una o
10 más etiquetas. El término "etiqueta" o "grupo de etiquetado" se refiere a cualquier etiqueta detectable. En general, las etiquetas se subdividen en una variedad de clases, según el ensayo en el que hayan detectado: a) las etiquetas isotópicas, que pueden ser isótopos radiactivos o pesados, b) etiquetas
15 magnéticas (por ejemplo, partículas magnéticas), c) porciones activas redox; d) colorantes ópticos, los grupos enzimáticos (por ejemplo, peroxidasa de raíz de rábano, β -galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina), e) los grupos de biotina, y f) epítomos de polipéptidos predeterminados reconocidos por un
20 reportero secundario (por ejemplo, secuencias de pares de cremallera de leucina, el enlace de sitios para anticuerpos secundarios, áreas de enlace a metales, etiquetas de epítomo, etc.). En algunas modalidades, el grupo etiquetado está acoplado a la proteína enlazada al antígeno a través de brazos espaciadores de varias longitudes para reducir el obstáculo estérico potencial. Varios métodos para las proteínas de etiquetado son conocidos en la técnica. Los ejemplos de grupos de etiquetado adecuados incluyen, pero no se limitan a, los

siguientes: radioisótopos o radionúclidos (por ejemplo, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), grupos fluorescentes (por ejemplo, con FITC, rodamina, fósforos lantánidos), grupos enzimáticos (por ejemplo, peroxidasa de raíz de rábano, β -galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina), grupos quimioluminiscentes, grupos biotinil o epítomos polipéptidos predeterminados reconocidos por un reportero secundario (por ejemplo, secuencias de pares de cremallera de leucina, los sitios de enlace de anticuerpos secundarios, los dominios de enlace de metales, etiquetas de epítomo). En algunas modalidades, el grupo etiquetado está acoplado a la proteína enlazada al antígeno a través de brazos espaciadores de varias longitudes para reducir el obstáculo estérico potencial. Varios métodos para etiquetar las proteínas se conocen en la técnica y pueden utilizarse dependiendo de qué tan apropiados sean.

El término "grupo efector" significa que cualquier grupo acoplado a una proteína enlazada al antígeno actúa como un agente citotóxico. Los ejemplos de grupos efectores adecuados son radioisótopos o radionúclidos (por ejemplo, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I). Otros grupos adecuados incluyen toxinas, grupos terapéuticos, o grupos quimioterapéuticos. Los ejemplos de grupos adecuados incluyen caliqueamicina, auristatinas, geldanamicina y maitansina. En algunas modalidades, el grupo efector está acoplado a la proteína enlazada al antígeno a través de brazos espaciadores de varias longitudes para reducir el obstáculo estérico potencial.

Polinucleótidos que codifican las proteínas enlazadas al antígeno IL-23

También se proporcionan los polinucleótidos que codifican las proteínas enlazadas al antígeno descritos en el presente documento, o porciones del mismo, incluyendo polinucleótidos que codifican una o ambas cadenas de un anticuerpo o un fragmento, derivado, muteína, o variante de la misma, polinucleótidos que codifican regiones variables de cadena pesada o sólo CDRs, suficientes polinucleótidos para su uso como sondas de hibridación, los cebadores de PCR o cebadores de secuenciación para identificar, analizar, mutar o amplificar un polinucleótido que codifica un polipéptido, los ácidos nucleicos anti-sentido para la inhibición de la expresión de un polinucleótido, y las secuencias complementarias de los anteriores. Los polinucleótidos pueden ser de cualquier longitud. Pueden ser, por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 85, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400 , 450, 500, 750, 1000, 1500, 3000, 5000 o más ácidos nucleicos en longitud, incluyendo todos los valores intermedios, y/o pueden comprender una o más secuencias adicionales, por ejemplo, secuencias reguladoras, y/o ser parte de un polinucleótido más grande, por ejemplo, un vector. Los polinucleótidos pueden ser de cadena simple o de doble hebra y puede comprender ARN y/o ácidos nucleicos de ADN y variantes artificiales de los mismos (por ejemplo, los ácidos nucleicos peptídicos).

Los polinucleótidos que codifican ciertas proteínas enlazadas al antígeno, o porciones de las mismas (por ejemplo, el anticuerpo de longitud completa, la cadena pesada o ligera,

000087

dominio variable, o un CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2, o CDRL3) pueden aislarse de las células B de ratones que han sido inmunizados con IL-23 o un fragmento inmunogénico de la misma. El polinucleótido puede ser aislado por medio de procedimientos convencionales tales como reacción en cadena de polimerasa (PCR). El despliegue de fagos es otro ejemplo de una técnica conocida por la cual pueden prepararse los derivados de anticuerpos y otras proteínas enlazadas al antígeno. En un enfoque, los polipéptidos que son componentes de una proteína enlazada al antígeno de interés se expresan en cualquier sistema de expresión recombinante adecuado, y a los polipéptidos expresados se les permite ensamblarse para formar moléculas de proteína enlazada al antígeno. El despliegue de fagos también se utiliza para derivar las proteínas enlazadas al antígeno que tienen propiedades diferentes (por ejemplo, variando afinidades al antígeno al que se unen) a través de mezclado de cadenas, ver Marks et al., 1992, Biotechnology 10:779.

Debido a la degeneración del código genético, cada una de las secuencias de polipéptidos descritos en este documento también están codificadas por un gran número de otras secuencias de polinucleótidos además de las previstas. Por ejemplo, los dominios variables de cadena pesada contenida en este documento puede ser codificado por secuencias de polinucleótidos SEQ ID NO: 32, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, o 59. Los dominios variables de cadena ligera pueden codificarse por medio de secuencias de polinucleótidos SEQ ID NO: 2, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, o 28. Un experto en la técnica apreciará que la presente solicitud proporcione una descripción

adecuada por escrito y sea posible para cada secuencia de nucleótido codificando cada proteína enlazada al antígeno.

Un aspecto adicional proporciona polinucleótidos que hibridizan a otras moléculas de polinucleótidos bajo condiciones de hibridización particulares. Se conocen muy bien en esta técnica los métodos para la hibridación de ácidos nucleicos, los parámetros básicos que afectan a la elección de las condiciones de hibridación y la orientación para la elaboración de las condiciones adecuadas. Véase, por ejemplo, Sambrook, Fritsch y Maniatis (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY y Current Protocols in Molecular Biology, 1995, Ausubel et al., John Wiley & Sons, Inc. Como se define aquí, una condición de hibridación moderadamente rigurosa utiliza una solución que contiene sodio prelavado 5x cloruro / citrato de sodio (SSC), SDS al 0.5%, un EDTA 0.0 mM (pH 8.0), una solución amortiguadora de hibridación de aproximadamente 50 % de formamida, 6x SSC, y una temperatura de hibridación de 55°C (u otras soluciones de hibridación similares, tales como una que contiene aproximadamente 50% de formamida, con una temperatura de hibridación de 42°C), y las condiciones de lavado de 60°C, en 0.5 x SSC, SDS al 0.1%. Una condición de hibridación severa en 6x SSC a 45°C, seguida por uno o más lavados en 0.1 x SSC, 0,2% SDS a 68°C. Además, un experto en la técnica puede manipular la hibridación y/o condiciones de lavado para aumentar o disminuir la severidad de la hibridación de tal manera que los polinucleótidos que comprenden las secuencias de ácidos nucleicos que son al menos 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92, 93% , 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%

idénticos entre sí, incluyendo todos los valores intermedios, por lo general se mantienen hibridizados entre sí.

Los cambios pueden ser introducidos por medio de la mutación en un polinucleótido, lo que conduce a cambios en la secuencia de aminoácidos de un polipéptido (por ejemplo, una proteína enlazada al antígeno o derivado de proteína enlazada al antígeno) que codifica. Las mutaciones se pueden introducir utilizando cualquier método conocido en la técnica, como la mutagénesis dirigida al sitio y mutagénesis aleatoria. Los polipéptidos mutantes pueden expresarse y seleccionarse para una propiedad deseada. Las mutaciones pueden ser introducidas en un polinucleótido sin alterar significativamente la actividad biológica de un polipéptido que codifica. Por ejemplo, las sustituciones en residuos de aminoácidos no esenciales. Alternativamente, una o más mutaciones se pueden introducir en un polinucleótido que cambie de manera selectiva la actividad biológica de un polipéptido que codifica. Por ejemplo, la mutación puede cambiar cuantitativa o cualitativamente la actividad biológica, tales como aumentar, reducir o eliminar la actividad y cambiar la especificidad antigénica de una proteína enlazada al antígeno.

Otro aspecto proporciona los polinucleótidos que son adecuados para uso como cebadores o sondas de hibridación para la detección de secuencias de ácidos nucleicos. Un polinucleótido puede comprender sólo una porción de una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido de longitud completa, por ejemplo, un fragmento que puede ser utilizado como una sonda o cebador o un fragmento que codifica una porción activa (por

000090

ejemplo, la IL-23 una porción de enlace) de un polipéptido. Las sondas basadas en la secuencia de un ácido nucleico pueden utilizarse para detectar el ácido nucleico o ácidos nucleicos similares, por ejemplo, las transcripciones que codifica un polipéptido. La sonda puede comprender un grupo de etiqueta, por ejemplo, un radioisótopo, un compuesto fluorescente, una enzima, o una enzima cofactor. Dichas sondas pueden utilizarse para identificar una célula que expresa el polipéptido.

Métodos de expresión de Proteínas enlazadas al antígeno

Las proteínas enlazadas al antígeno proporcionadas en este documento pueden ser preparadas por medio de un número de técnicas convencionales. Por ejemplo, las proteínas de enlace al antígeno IL-23 pueden ser producidas por medio de sistemas de expresión recombinantes, utilizando cualquier método conocido en la técnica. Véase por ejemplo, Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses, Kennet et al.(eds.) Plenum Press, New York (1980); and Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow and Lane (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1988).

Las construcciones y sistemas de expresión en la forma de plásmidos, vectores de expresión, casetes de expresión o transcripción que comprenden al menos un polinucleótido como se describió previamente también se proporcionan en el presente documento, así como también las células hospederas que comprenden tales construcciones o sistemas de expresión. Como se usa en el presente documento, "vector" significa cualquier molécula o entidad (por ejemplo, ácido nucleico, plásmido, bacteriófago o virus) idónea para usarla para transferir información de

000091

codificación de proteína en una célula hospedera. Los efectos de vectores incluyen pero no se limitan a, plásmidos, vectores virales, vectores de mamíferos no episomales y vectores de expresión, por ejemplo, vectores de expresión recombinantes. Los
5 vectores de expresión, tales como los vectores de expresión recombinantes, son útiles para la transformación de una célula hospedera y contienen secuencias de ácido nucleico que dirigen y/o controlan (junto con la célula hospedera) la expresión de una o más áreas codificadoras heterólogas operativamente
10 conectadas a ese lugar. Una construcción de expresión puede incluir, pero no se limita a, secuencias que afecten o controlen la transcripción, traducción, y, si hay intrones presentes, afecta el ARN acoplando una región codificadora operablemente conectada a ese lugar. "Operablemente conectado" quiere decir que
15 los componentes a los cuales se aplica el término tienen una relación que les permite llevar sus funciones inherentes. Por ejemplo, una secuencia de control, por ejemplo, un promotor, en un vector que es "operablemente conectado" a una secuencia codificadora de proteína se organiza de manera que la actividad
20 normal de la secuencia de control lleva a la transcripción de la secuencia codificadora de proteína dando como resultado la expresión de la proteína codificada.

Otro aspecto proporciona a las células hospederas en las cuales un vector de expresión, como un vector de expresión recombinante, ha sido introducido. Una célula hospedera puede ser cualquier célula procariota (por ejemplo, E.coli) o célula eucariota (por ejemplo, células mamíferas, de insecto o de hongo (por ejemplo, células CHO)). El vector ADN puede introducirse en

células procariotas o eucariotas por medio de transformación convencional o técnicas de transfección. Para la transfección estable de células mamíferas, se sabe que, dependiendo del vector de expresión y la técnica de transfección utilizados, sólo una
5 pequeña fracción de células puede integrar el ADN externo en su genoma. Para identificar y seleccionar estos integrantes, un gen que codifica un marcador seleccionable (por ejemplo, para la resistencia de antibióticos) por lo general se introduce en las células hospederas junto al gen de interés. Los marcadores
10 seleccionables preferidos incluyen aquellos que confieren resistencia a drogas, como la G418, higromicina y metotrexato. Las células establemente transferidas con el polinucleótido introducido pueden identificarse por selección de fármacos (por ejemplo, las células que tienen incorporado el gen de marcador
15 seleccionable sobrevivirán, mientras que las otras células morirán), entre otros métodos.

Las proteínas enlazadas al antígeno pueden expresarse en líneas de célula hibridoma (por ejemplo, en anticuerpos
particulares puede expresarse en hibridomas) o en líneas de
20 células aparte de las hibridomas. Las construcciones de expresión codifican las proteínas enlazadas al antígeno pueden usarse para transformar un mamífero, insecto o célula hospedera de microbio. La transformación puede realizarse utilizando cualquier método conocido para introducir polinucleótidos en una célula hospedera, incluyendo, por ejemplo empaquetando el polinucleótido en un virus o bacteriófago y transduciendo una célula hospedera con la construcción por medio de procesos de transfección conocidos en la técnica, como lo ejemplifica la patente de EUA Núms.
000093

4,399,216; 4,912,040; 4,740,461; 4,959,455. El proceso de transformación óptima utilizado dependerá de cual tipo de célula hospedera se transforme. Los métodos para la introducción de células mamíferas en polinucleótidos son bien conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, la transfección mediada de dextrano, precipitación de fosfato de calcio, transfección mediada de polibreno, fusión de protoplasto, electroporación, encapsulación del polinucleótido(s) en liposomas, mezcla de ácido nucleico con lípidos cargados de manera positiva, y microinyección directa de ADN en el núcleo.

Las construcciones de expresión recombinante por lo general comprenden un polinucleótido codificando un polipéptido. El polipéptido puede comprender uno o más de los siguientes: una o más CDRs como se proporcionó en este documento: una región variable de cadena ligera: una región variable de cadena pesada, una región constante de cadena ligera, una región constante de cadena pesada (por ejemplo, C_H1, C_H2 y/o C_H3); y/u otra porción de andamiaje de una proteína enlazada al antígeno IL-23. Estas secuencias de ácido nucleico se insertan en un vector de expresión apropiado utilizando técnicas de ligación estándar. En una modalidad, la región constante de cadena pesada o ligera se adjunta al C-terminal de la región variable de cadena pesada o ligera proporcionada en el presente documento y se liga en un vector de expresión. Por lo general el vector se selecciona para ser funcional en la célula hospedera particular (por ejemplo, el vector es compatible con la maquinaria de célula hospedera, puede ocurrir la amplificación y/o expresión del gen). En algunas modalidades, los vectores se utilizan en los ensayos de

complementación de fragmento-proteína usando reporteros de proteína, tales como el dihidrofolato reductasa (véase, por ejemplo, la patente de EUA No. 6,270,964). Los vectores de expresión idónea pueden comprarse, por ejemplo, en Invitrogen
5 Life Technologies (Carlsbad, CA) o BD Biosciences (San Jose, CA). Otros vectores útiles para la clonación y expresión de anticuerpos y fragmentos incluyen aquellos descritos en Bianchi y McGrew, 2003, Biotech. Biotechnol. Bioeng. 84:439-44. Los vectores de expresión idóneos adicionales se discuten, por
10 ejemplo, en Methods Enzymol., vol. 185 (D. V. Goeddel, ed.), 1990, New York: Academic Press.

Por lo general, los vectores de expresión utilizados en cualquiera de las células hospederas contienen secuencias para el mantenimiento de plásmidos y para la clonación y expresión de
15 secuencias nucleótidas exógenas. Tales secuencias, correlativamente referidas como "secuencias de flaqueo" en ciertas modalidades por lo general incluirán una o más de las siguientes secuencias de nucleótidos: un promotor, una o más secuencias intensificadoras, un origen o replicación, una
20 secuencia de terminación transcripcional, una secuencia de intrón completa que contiene un sitio de centro aceptor y donador, una secuencia codificante de una secuencia líder para la secreción de polipéptido, un sitio de enlace ribosoma, una secuencia de poliadenilación, un área de policonexión para insertar el polinucleótido codificando el polipéptido a expresar, y un elemento marcador seleccionable. Los vectores de expresión que se proporcionan pueden ser contruidos de un vector de arranque como un vector disponible de manera comercial. Dichos vectores pueden

o no pueden contener todas las secuencias diversas deseadas. Donde una o más de las secuencias deseadas descritas en este documento ya no están presentes en el vector, se pueden obtener de manera individual y conectarse al vector. Los métodos usados
5 para obtener cada secuencia diversa son bien conocidos por un experto en la técnica.

De manera opcional, el vector puede contener una secuencia codificadora de "etiqueta", por ejemplo, una molécula de oligonucleótido localizada al final de las posiciones 5' o 3' de
10 la secuencia codificadora de la proteína enlazada al antígeno IL-23; la secuencia de oligonucleótido codifica poliHis (como hexaHis), u otra "etiqueta" como FLAG®, HA (hemaglutinina de virus de influenza), o myc, para la cual existe comercialmente un anticuerpo. Esta etiqueta por lo general está fusionada al
15 polipéptido sobre la expresión del polipéptido, y puede servir como medio para la detección o purificación de afinidad de la proteína enlazada al antígeno IL-23 de la célula hospedera. La purificación de la afinidad puede ser realizada, por ejemplo, por medio de una cromatografía de columna utilizando anticuerpos
20 contra la etiqueta como una matriz de purificación. De manera opcional, la etiqueta puede ser removida subsecuentemente de la proteína de enlace antigénico IL-23 purificada de muchas maneras como el utilizar ciertas peptidasas para cultivos celulares.

Las secuencias de flaqueo pueden ser homólogas (por ejemplo, de la misma especie y/o cepa como la célula hospedera), heterólogas (por ejemplo, de una especie o cepa distinta a la de las células hospederas), híbrido (por ejemplo, una combinación de secuencias de flaqueo de más de una fuente), sintética o nativa.

Como tal, la fuente de una secuencia diversa puede ser cualquier organismo procariótico o eucariótico, cualquier organismo vertebrado o invertebrado, o cualquier planta, con la condición de que la secuencia de flaqueo funcione en el organismo, y que
5 pueda ser activa por, la maquinaria de la célula hospedera.

Las secuencias de flaqueo que son útiles en los vectores pueden ser obtenidas por cualquiera de los muchos métodos bien conocidos en la técnica. Por lo general, las secuencias de flaqueo útiles en el presente documento habrán sido previamente
10 identificadas por asignación y/o por digestión de endonucleasa de restricción y entonces pueden aislarse de la fuente de tejido propio utilizando las endonucleasas de restricción apropiadas. En algunos casos, la secuencia nucleótida total de una secuencia de flaqueo puede ser conocida. Aquí, la secuencia de flaqueo puede
15 ser sintetizada utilizando los métodos descritos en el presente documento para la síntesis de ácido nucleico o clonación.

Ya sea que todas o solo una porción de la secuencia de flaqueo sea conocida, puede ser obtenida utilizando una reacción en cadena de polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) y/o por
20 medio de cribado de una biblioteca genómica con una sonda idónea como un oligonucleótido y/o fragmentos de secuencia de flaqueo de la misma u otras especies. Donde la secuencia de flaqueo no es conocida, un fragmento de ADN que contenga una secuencia de flaqueo puede ser aislado de una pieza más larga de ADN que puede contener, por ejemplo, una secuencia de codificación o incluso otro gen o genes. El aislamiento puede ser alcanzado por digestión con endonucleasa de restricción para producir el propio fragmento de ADN seguido de aislamiento usando gel de

purificación de agarosa, la cromatografía de columna Qiagen® (Qiagen, Chatsworth, CA), u otros métodos conocidos por el técnico experto. La selección de enzimas idóneas para conseguir este propósito será evidente para un experto en la técnica.

5 Un origen de replicación es por lo general una parte de aquellos vectores de expresión procariótica adquiridos de manera comercial, y el origen ayuda en la amplificación en una célula hospedera. Si el vector de elección no contiene un origen de sitio de replicación, uno puede sintetizarse de manera química
10 basándose en una secuencia conocida, y ligada al vector. Por ejemplo, el origen de la replicación del plásmido pBR322 (New England Biolabs, Beverly, MA) es idóneo para la mayoría de las bacterias gram-negativas, y varios orígenes virales (por ejemplo, SV40, poliovirus, adenovirus, virus estomacal vesicular (VSV, por
15 sus siglas en inglés) o virus de papiloma como el VPH o VPB) son útiles para la clonación de vectores en células mamíferas. Por lo general el origen del componente de replicación no se necesita para los vectores de expresión mamífera (por ejemplo, el origen SV40 se usa frecuentemente sólo porque también contiene el virus
20 de promotor temprano).

Una secuencia de terminación de transcripción es generalmente colocada en posición 3' al final de un área codificadora de polipéptidos y sirve para terminar la transcripción. Por lo general, la secuencia de terminación de transcripción en células procariotas es un fragmento rico en G-C seguido por una secuencia poli-T. Mientras que la secuencia se clona fácilmente de una biblioteca o incluso se adquiere comercialmente como parte de un vector, también puede ser

sintetizada usando métodos para la síntesis de ácidos nucleicos como aquellos descritos en este documento.

Un gen marcador de selección codifica una proteína necesaria para la supervivencia y crecimiento de una célula hospedera en crecimiento en un medio de cultivo selectivo. Los genes marcadores de selección típica codifican proteínas que (a) confieren resistencia a antibióticos u otras toxinas, por ejemplo, ampicilina, tetraciclina, o kanamicina para las células hospederas procariotas; (b) complementan deficiencias autotróficas de la célula; o (c) suministran nutrientes críticos no disponibles de los medios definidos o complejos. Los marcadores seleccionables específicos son el gen de resistencia a kanamicina, el gen de resistencia a ampicilina y el gen de resistencia a tetraciclina. De manera ventajosa, un gen de resistencia a neomicina también puede usarse para la selección en ambas células hospederas, procariotas y eucariotas.

Otros genes seleccionables pueden ser usados para amplificar el gen que será expresado. La amplificación es el proceso en el cual los genes que se requieren para la producción de una proteína crítica para crecimiento o supervivencia de célula se reiteran en tándem dentro de los cromosomas de generaciones sucesivas de células recombinantes. Los ejemplos de marcadores idóneos para las células mamíferas incluyen dihidrofolato reductasa (DHFR) y genes de quinasa timidina sin promotores. Las células mamíferas transformadas se colocan bajo una presión de selección en donde solo las transformadas se adaptan particularmente para sobrevivir por virtud del gen seleccionable presente en el vector. La presión de selección es impuesta al

000099

cultivar las células transformadas bajo condiciones en las cuales el agente de concentración de selección en el medio se incrementa de manera satisfactoria, de este modo lleva a la amplificación de ambos el gen seleccionable y el ADN que codifica otro gen, como una proteína de enlace antigénico que enlaza a IL-23. Como resultado, las cantidades incrementadas de un polipéptido como una proteína enlazada al antígeno se sintetizan del ADN amplificado.

Un sitio de enlace a ribosomas es generalmente necesario para la iniciación de la traducción de ARN mensajero y se caracteriza por una secuencia Shine-Dalgarno (procariota) o una secuencia Kozak (eucariota). El elemento por lo general se localiza en una posición 3' al promotor y en una posición 5' a la secuencia codificadora del polipéptido a expresar.

En algunos casos, como cuando se desea una glicosilación en un sistema de expresión de célula hospedera, uno puede manipular las muchas pre- o pro-secuencias para mejorar la glicosilación o cultivo. Por ejemplo, uno puede alterar el sitio de escisión de peptidasa de un péptido de señal particular, o agregar prosecuencias, las cuales también pueden afectar la glicosilación. El producto de proteína final puede tener, en la posición -1 (relativa al primer aminoácido de la proteína madura), uno o más aminoácidos adicionales incidentes para expresión, los cuales pudieran no haber sido totalmente removidos. Por ejemplo, el producto de proteína final puede tener uno o dos residuos de aminoácidos encontrados en el sitio de escisión de peptidasa, adjuntos a la terminación amino. De manera alternativa, el uso de algunos sitios de escisión de peptidasa

000100

puede resultar en una forma de polipéptido ligeramente truncada, si la enzima corta en determinada área dentro del polipéptido maduro.

La expresión y clonación por lo general contendrán un
5 promotor que es reconocido por el organismo albergador y está
conectado operativamente a la molécula que codifica una proteína
enlazada al antígeno IL-23. Los promotores son secuencias sin
transcribir localizadas corriente arriba (por ejemplo, una
posición 5') al comienzo del codón de un gen estructural. Los
10 promotores se encuentran convencionalmente agrupados en una de
dos clases: promotores inducibles y promotores constitutivos. Los
promotores inducibles comienzan incrementando sus niveles de
transcripción de ADN bajo su control en respuesta a algunos
cambios en condiciones de cultivo, como la presencia o ausencia
15 de un nutriente o un cambio en la temperatura. Por otra parte,
los promotores constitutivos transcriben uniformemente un gen al
cual están operativamente conectados, esto con poco o sin control
sobre la expresión gen. Un gran número de promotores, reconocidos
por una variedad de células hospederas potenciales, son bien
20 conocidos. Un promotor idóneo está operativamente conectado al
ADN codificando una región variable de cadena pesada o un región
variable de cadena ligera de una proteína enlazada al antígeno
IL-23 removiendo el promotor de la fuente ADN por medio de la
digestión de enzima de restricción e insertando la secuencia de
promotor deseada en el vector.

Los promotores idóneos para su uso con los hospedadores de
levadura también son bien conocidos. Los potenciadores de
levadura son ventajosamente utilizados con promotores de

. 000101

levadura. Los promotores idóneos para el uso de células
hospederas mamíferas son bien conocidos e incluidos, pero no
están limitados a aquellos obtenidos de los genomas de virus como
el virus de polio, el virus de la viruela de las aves de
5 corral, adenovirus (como el adenovirus 2). El virus del papiloma
bovino, el virus del sarcoma aviar, citomegalovirus, retrovirus,
el virus de la hepatitis B, y el Virus del Simio (SV40). Otros
promotores mamíferos idóneos incluyen los promotores mamíferos
heterólogos, por ejemplo, los promotores de choque térmico y el
10 promotor de actina.

Los promotores adicionales los cuales pueden ser de interés
incluyen, pero no se limitan a: el promotor temprano SV40
(Thornsen et al., 1984, Proc. Natl. Acad. EUA 81:659-663); el
promotor CMV (Benoist y Chambon, 1981, Nature 290:304-310); el
15 promotor contenido en la repetición de la terminal larga en
posición 3' del virus Sarcoma Rous (Yamamoto et al., 1980, Cell
22:787-797); el promotor de quinasa timidina del herpes (Wagner
et al., 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 78:1444-1445); el
promotor y las secuencias regulatorias del gen de metalotioneína
20 (Prinster et al., 1982, Nature 296:39-42); y los promotores
procariotas como el promotor de beta-lactamasa (Villa-Kamaroff et
al., 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 75:3727-3731); o el
promotor tac (DeBoer et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. EUA
80:21-25). También de interés están las siguientes regiones de
control transcripcional animal, las cuales exhiben especificidad
del tejido y han sido utilizadas en animales transgénicos, la
región de control de gen elastasa I que esta activa en células
acinares pancreáticas (Swift et al., 1984, Cell 38:639-646;

Ornitz et al., 1986, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 50:399-409; MacDonald, 1987, Hepatology 7:425-515); la región de control de gen de insulina que se encuentra activo en las células beta (Hanahan, 1985, Nature 315:1 15-122); la región de control
5 de gen de inmunoglobulina que se encuentra activa en las células linfoides (Grosschedl et al., 1984, Cell 38:647-658; Adames et al., 1985, Nature 318:533-538; Alexander et al., 1987, Mol. Cell. Biol. 7:1436-1444); la región de control de virus de tumor mamario de ratón que está activo en los mastocitos y células
10 linfoides, testiculares y de pecho (Leder et al., 1986, Cell 45:485-495); la región de control de gen de albúmina que está activa en el hígado (Pinkert et al., 1987, Genes y Devel. 1:268-276); la región de control de gen de proteína-feto-alfa que está activa en el hígado (Krumlauf et al., 1985, Mol. Cell. Biol.
15 5:1639-1648; Hammer et al., 1987, Science 253:53-58); la región de control de gen 1-antitripsin alfa que se encuentra activa en el hígado (Kelsey et al., 1987, Genes and Devel. 1 :161-171); la región de control de gen beta-globina que se encuentra activa en células mieloides (Mogam et al., 1985, Nature 315:338-340;
20 Kollias et al., 1986, Cell 46:89-94); la región de control de gen de proteína básica que se encuentra activa en las células de oligodendrocitos en el cerebro (Readhead et al., 1987, Cell 48:703-712); la región de control del gen de cadena-2 ligera miosina que está activa en el músculo esquelético (Sani, 1985, Nature 314:283-286); y la región de control del gen de la hormona que libera la gonadotropina que está activa en el hipotálamo (Mason et al., 1986, Science 234:1372-1378).

000103

Una secuencia potenciadora puede ser insertada en el vector para incrementar la transcripción por medio de eucariotas superiores. Los potenciadores son elementos que actúan en cis del ADN, usualmente alrededor de 10-300bp en longitud, que actúan en el promotor para incrementar la transcripción. Los potenciadores son relativamente independientes en su posición y orientación habiendo sido encontrados en ambas posiciones 5' y 3' a la unidad de transcripción. Se conocen secuencias potenciadoras disponibles de genes mamíferos (por ejemplo, globina, elastasa, albúmina, proteína-feto-alfa e insulina). Sin embargo, generalmente se utiliza un potenciador de un virus. El potenciador SV40, el potenciador promotor temprano de citomegalovirus, el potenciador de polio, los potenciadores de adenovirus conocidos en la técnica son ejemplares de elementos potenciadores para la activación de promotores de eucariotas. Mientras que un potenciador puede estar posicionado en el vector ya sea en una posición 5' o 3' para una secuencia codificadora, por lo general se localiza en el sitio 5' del promotor. Una secuencia que codifica una secuencia de señal nativa apropiada o una heteróloga (secuencia líder o péptido de señal) puede incorporarse en un vector de expresión, para promover la secreción extracelular del anticuerpo. La elección de péptido señal o líder depende del tipo de células hospederas en las cuales se produce el anticuerpo, y una secuencia de señal heteróloga puede remplazar la secuencia de señal nativa. Los ejemplos de péptidos de señal que son funcionales en células hospederas mamíferas incluyen las siguientes: la secuencia de señal para interleucina 7 descrita en la patente de EUA No. 4,965,195; la secuencia de señal para

000104

interleucina 2 descrita en Cosman et al., 1984, Nature 312:768; el péptido de señal receptora de interleucina-4 descrito en la Patente EP No. 0367 566; el péptido de señal receptora tipo 1 de interleucina-1 en la Patente de EUA No. 4,968,607; el péptido de
5 señal receptora tipo II de interleucina-1 descrita en la Patente EP No. 0 460 846.

Después de que se ha construido el vector, el vector completado puede ser insertado en una célula hospedera idónea para la expresión polipéptida y/o amplificación. La
10 transformación de un vector de expresión para una proteína enlazada al antígeno en una célula hospedera seleccionada puede alcanzarse por medio de métodos bien conocidos incluyendo la transfección, infección, co-precipitación de fosfato de calcio, electroporación, microinyección, lipofección, transfección
15 mediada de DEAE-dextrano, u otros métodos conocidos. El método seleccionado será en parte una función del tipo de célula hospedera a ser utilizada. Estos métodos y otras técnicas idóneas son bien conocidas por un experto en la materia, y están establecidas, por ejemplo, en Sambrook et al., Molecular Cloning:
20 A Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001).

Cuando se cultiva una célula hospedera bajo las condiciones apropiadas, esta sintetiza la proteína que puede recolectarse subsecuentemente del medio de cultivo (si la célula hospedera secreta en el medio) o directamente de la célula hospedera produciéndolo (si no es secretada). La selección de una célula hospedera apropiada dependerá de varios factores, tales como los niveles de expresión deseados, modificaciones del polipéptido que

son deseables o necesarias para la actividad (como la glicosilación o la fosforilación) y fáciles de incorporar a una molécula activa de manera biológica.

Las líneas de células mamíferas disponibles como hospederas para la expresión son bien conocidas en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, líneas de células inmortalizadas disponibles en American Type Culture Collection (ATCC), incluyendo pero no limitando a células de ovarios de hámster Chino (CHO), células HeLa, células de riñón de cría de hámster (BHK), células de riñón de mono (COS), células carcinomas hepatocelulares humanas (por ejemplo, Hep G2) y un número de otras líneas celulares. En ciertas modalidades, las líneas de células pueden ser seleccionadas para determinar cuáles líneas de células poseen niveles de expresión y producen constitutivamente proteínas enlazadas al antígeno. IL-23. En otras modalidades, también puede seleccionarse una línea de célula del linaje de célula B que no posee su propio anticuerpo pero tiene la capacidad para hacer y secretar un anticuerpo heterólogo.

Uso de las proteínas enlazadas al antígeno IL-23 para propósitos terapéuticos y de diagnóstico

Las proteínas enlazadas al antígeno son útiles para detectar IL-23 en muestras biológicas y para la identificación de células o tejidos que producen IL-23. Las proteínas enlazadas al antígeno que se enlazan específicamente a IL-23 pueden ser utilizadas en diagnóstico y/o tratamiento de enfermedades relacionadas a IL-23 en un paciente que lo necesite. Para unos, las proteínas enlazadas al antígeno IL-23 pueden usarse en pruebas de diagnóstico, por ejemplo, pruebas de enlace para detectar y/o

calificar IL-23 expresada en sangre, suero, células o tejido. Además, las proteínas enlazadas al antígeno pueden utilizarse para reducir, inhibir, interferir con o modular una o más actividades biológicas de IL-23 en una célula o tejido. De este modo, las proteínas enlazadas al antígeno que enlazan a IL-23 pueden tener un uso terapéutico en enfermedades relacionadas a IL-23.

Indicaciones

La presente invención también se relaciona al uso de las proteínas enlazadas al antígeno para su uso en la prevención o tratamiento terapéutico de trastornos médicos, como los revelados en el presente documento. Las proteínas enlazadas al antígeno IL-23 son útiles para tratar una variedad de condiciones en las cuales IL-23 se asocia o desempeña una función en la contribución de la enfermedad o trastorno subyacente o contribuye de otra forma a un síntoma negativo.

Las afecciones tratadas de manera efectiva por las proteínas enlazadas al antígeno IL-23 desempeñan una función en la respuesta inflamatoria. Tales trastornos inflamatorios incluyen enfermedad periodontal, trastornos del pulmón como el asma, trastornos de la piel como la psoriasis, dermatitis atópica, dermatitis de contacto, trastornos reumáticos como la artritis reumatoide, esclerosis sistémica progresiva (escleroderma); lupus sistémico eritematoso; espondiloartritis incluyendo espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, artritis enteropática y artritis reactiva. También se contempla la uveítis incluyendo la enfermedad de Vogt-Koyanagi-Harada, uveítis anterior y posterior idiopática, y la uveítis asociada con

espondiloartritis. El uso de las proteínas enlazadas al antígeno IL-23 también se contempla para el tratamiento de trastornos autoinmunes incluyendo esclerosis múltiple; miocarditis autoinmune: diabetes tipo 1 y tiroiditis autoinmune.

5 Las afecciones degenerativas del sistema gastrointestinal son tratables o de prevención con las proteínas enlazadas al antígeno IL-23. Tales trastornos gastrointestinales incluyen la enfermedad inflamatoria del intestino: la enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa y enfermedad Celiaca.

10 También se incluye el uso de proteínas enlazadas al antígeno en tratamientos para enfermedad injerto-contra-huésped, y complicaciones como el rechazo de implante, resultando de trasplante de órganos, como de corazón, hígado, piel, riñón, pulmón u otros trasplantes, incluyendo los trasplantes de médula
15 ósea.

En este documento también se proporcionan métodos para el uso de proteínas enlazadas al antígeno IL-23, para tratar varios trastornos oncológicos incluyendo varias formas de cáncer incluyendo el cáncer de colon, estómago, próstata, célula renal, cervical y ovario (SCLC y NSCLC). También se incluyen los tumores
20 sólidos incluyendo el sarcoma, osteosarcoma, y carcinoma, como el adenocarcinoma y carcinoma de célula escamosa, cáncer de esófago, cáncer gástrico, carcinoma de vejiga, leucemia, incluyendo leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia mieloide, leucemia linfoblástica aguda y leucemia de célula velluda, y múltiple mieloma.

Métodos de diagnóstico

000108

Las proteínas enlazadas al antígeno descritas pueden ser usadas para propósitos de diagnóstico para detectar, diagnosticar o monitorear enfermedades y/o afecciones asociadas con IL-23. Los ejemplos de métodos útiles en la detección de presencia de IL-23 incluyen inmunoensayos, como la enzima conectada a la prueba inmunosorbente (ELISA) y la radioinmunoensayo (RIA).

Para las aplicaciones de diagnóstico, la proteína enlazada al antígeno por lo general será etiquetada con un grupo de etiquetado detectable. Los grupos de etiquetado idóneos incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: radioisótopos o radionúclidos (por ejemplo, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), grupos fluorescentes (por ejemplo, FITC, rodamina, fósforos de lantánidos), grupos enzimáticos (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, β -galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina), grupos quimioluminosos, grupos biotinilados, o epítomos polipéptidos predeterminados reconocidos por un reportero secundario (por ejemplo, secuencias de cremallera de leucina, sitios de enlace para anticuerpos secundarios, dominios de enlace de metales, etiquetas epítomos). En algunas modalidades, el grupo etiquetado está acoplado a la proteína enlazada al antígeno a través de brazos espaciadores de varias longitudes para reducir el obstáculo estérico potencial. Varios métodos para las proteínas de etiquetado son conocidos en la técnica.

Se proporcionan otros métodos de diagnóstico para identificar una célula o células que expresen IL-23. En una modalidad específica, la proteína enlazada al antígeno se etiqueta con un grupo de etiquetación y se detecta la proteína

enlazada al antígeno IL-23. En una modalidad futura, el enlace de la proteína enlazada al antígeno a IL-23 se detecta *in vivo*. En una modalidad futura, la proteína enlazada al antígeno IL-23 se aísla y se mide utilizando métodos conocidos en la técnica.

5 Véase, por ejemplo, Harlow and Lane, 1988, *Antibodies: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor (ed. 1991 y suplementos periódicos); John E. Coligan, ed., 1993, *Current Protocols In Immunology* New York: John Wiley & Sons.

Se proporcionan otros métodos para detectar la presencia de una molécula de prueba que compite por un enlace a IL-23 con la proteína enlazada al antígeno proporcionada. Un ejemplo de una de tal prueba implicaría detectar la cantidad libre de proteína enlazada al antígeno en una solución que contiene una cantidad de IL-23 en la presencia o ausencia de la molécula de prueba. Un incremento en la cantidad libre de proteína enlazada al antígeno (por ejemplo, la proteína enlazada al antígeno no destinada a IL-23) indicaría que la molécula de prueba es capaz de competir por un enlace IL-23 con la proteína enlazada al antígeno. En otra modalidad, la proteína enlazada al antígeno se etiqueta con un grupo de etiquetación. De manera alternativa, la molécula de prueba se etiqueta y la cantidad de molécula de prueba libre se monitorea en presencia o ausencia de una proteína enlazada al antígeno.

Métodos de tratamiento: Fórmulas farmacéuticas, Vías de administración

Se proporcionan las composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de una o una pluralidad de proteínas enlazadas al antígeno y un excipiente,

diluyente, portador, solubilizante, emulsificador, preservativo, y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable. Además, se incluyen los métodos de trato a un paciente por medio de la administración de dicha composición farmacéutica. El término "paciente" incluye 5 pacientes humanos. Los términos "tratar" y "tratamiento" abarcan alivio o prevención de al menos un síntoma u otro aspecto de un trastorno, o la reducción de una enfermedad seria, y similares. El término "cantidad terapéuticamente efectiva" o "cantidad efectiva" se refieren a la cantidad determinada de proteína 10 enlazada al antígeno IL-23 para producir cualquier respuesta terapéutica en un mamífero. Tales cantidades terapéuticamente efectivas se determinan fácilmente por un experto en la materia.

Una proteína enlazada al antígeno necesita no influir en una cura completa, o erradicar cada síntoma o manifestación de una 15 enfermedad, para constituir un agente terapéutico viable. Como se ha reconocido en el campo pertinente, las drogas empleadas como agentes terapéuticos pueden reducir la severidad del estado de enfermedad dado, pero necesitan no suprimir cada manifestación de la enfermedad para que se contemplen como agentes terapéuticos 20 útiles. De manera similar, un tratamiento administrado profilácticamente necesita no ser completamente efectivo en la prevención de la aparición de una condición para constituir un agente profiláctico viable. Simplemente el reducir el impacto de una enfermedad (por ejemplo, reduciendo el número o severidad de sus síntomas, o incrementando la efectividad de otro tratamiento, o produciendo otro beneficio), o reduciendo la probabilidad de que la enfermedad en un sujeto ocurra o empeore, es suficiente. Ciertos métodos proporcionados en este documento comprenden la

000111

administración de un antagonista Il-23 al paciente (como las proteínas enlazadas al antígeno reveladas en este documento) en una cantidad y por el tiempo suficiente para inducir una mejora sustentada sobre la línea de base de un indicador que refleje la
5 severidad del trastorno particular.

Como se entendió en el campo pertinente, las composiciones farmacéuticas que comprenden las moléculas de la invención se administran al paciente de manera apropiada a la indicación. Las composiciones farmacéuticas pueden ser administradas por medio de
10 cualquier técnica apropiada, incluyendo pero no limitando a, parentalmente, tópicamente, o por inhalación. Si se inyecta, la composición farmacéutica puede ser administrada, por ejemplo, vía intra-articular, intravenosa, intramuscular, intralesional, intraperitoneal o rutas subcutáneas, por inyección en bolo, o
15 infusión continua. Se contempla la administración localizada, por ejemplo, en un sitio de enfermedad o lesión, mientras sean de entrega transdérmica y de liberación sostenida a partir de implantes. La entrega por medio de inhalación, por ejemplo, inhalación oral o nasal, uso de un nebulizador, inhalación del
20 antagonista en forma de aerosol, y semejantes. Otras alternativas incluyen gotas para los ojos, preparaciones orales incluyendo píldoras, jarabes, grageas o goma de mascar; y preparaciones tópicas como las lociones, geles, rocíos y ungüentos.

También se contempla el uso de proteínas enlazadas al antígeno en procedimientos ex vivo. Por ejemplo, la sangre de un paciente u otro fluido corporal puede conectarse con una proteína enlazada al antígeno que enlaza Il-23 ex vivo. La proteína enlazada al antígeno puede estar destinada a una matriz insoluble. 000112

o material de soporte sólido.

Ventajosamente, las proteínas enlazadas al antígeno se administran en forma de una composición compuesta de uno o más componentes adicionales como un portador aceptable de manera fisiológica, excipiente o diluyente. De manera opcional, la composición adicionalmente comprende uno o más agentes activos fisiológicamente para terapia de combinación. Una composición farmacéutica puede comprender una proteína enlazada al antígeno IL-23 junto con una o más sustancias seleccionadas del grupo que consiste de un neutralizador. Un antioxidante como el ácido ascórbico, un polipéptido de peso bajo molecular (como aquellos que tienen menos de 10 aminoácidos), una proteína, un aminoácido, un carbohidrato como la glucosa, sacarosa o dextrinas, un agente quelante como EDTA, glutatión, un estabilizador, y un excipiente. La solución salina neutral o solución salina mezclada con suero específico de albúmina son ejemplos de solventes apropiados. De acuerdo con los estándares apropiados de la industria, los preservativos como el alcohol bencílico también puede agregarse. La composición puede ser formulada como un liofilizado utilizando soluciones de excipiente apropiadas (por ejemplo, la sacarosa) como solventes. Los componentes idóneos no son tóxicos para los recipientes en las dosificaciones y concentraciones empleadas. Los futuros ejemplos de los componentes que pueden ser empleados en formulas farmacéuticas se presentan en cualquiera de las Ciencias Farmacéuticas de Remington incluyendo la 21st Ed. (2005), Mack Publishing Company, Easton, PA.

Los kits que usan los médicos profesionales incluyen una proteína enlazada al antígeno IL-23 y una etiqueta u otra

. 000113

instrucción para su uso en el tratamiento de cualquiera de las afecciones discutidas en este documento. En una modalidad, el kit incluye una preparación estéril de una o más proteínas enlazadas al antígeno IL-23, las cuales pueden estar en forma de
5 composición como se reveló anteriormente, y pueden estar en uno o más frasquitos.

Las dosificaciones y la frecuencia de administración pueden variar de acuerdo a tales factores como la vía de administración, las proteínas enlazadas al antígeno particulares empleadas, la
10 naturaleza y la severidad de la enfermedad a tratar, ya sea que la condición sea aguda o crónica, y el tamaño y condición general del sujeto. Las dosificaciones apropiadas pueden determinarse por medio de procedimientos conocidos en la técnica pertinente, por ejemplo, en experimentos clínicos que puedan implicar estudios de
15 intensificación de dosificaciones.

Una dosificación típica puede estar en el intervalo de alrededor de 0.1 g/kg hasta alrededor de 30 mg/kg o más, dependiendo de los factores arriba mencionados. En modalidades específicas, el intervalo de dosificación es de alrededor de 0.1
20 g/kg hasta alrededor de 30 mg/kg, opcionalmente de 1 g/kg hasta alrededor de 30 mg/kg, opcionalmente de 10 g/kg hasta alrededor de 10 mg/kg, opcionalmente de 0.1 mg/kg a 5 mg/kg, u opcionalmente de 0.3 mg/kg a 3 mg/kg.

La frecuencia de dosificación dependerá de los parámetros farmacocinéticos de la proteína enlazada al antígeno Il-23 humana particular en la fórmula usada. Por lo general, un clínico administra la composición hasta que una dosificación alcanza el efecto deseado. Por lo tanto, la composición puede administrarse

como una dosificación sencilla, o como dos o más dosificaciones (las cuales pueden o no contener la misma cantidad de molécula deseada) en el tiempo, o como una infusión continua por medio de una implantación de catéter o dispositivo. Las dosificaciones apropiadas pueden ser determinadas a través del uso de datos de dosificación apropiada. Una proteína enlazada al antígeno de la invención puede ser administrada, por ejemplo, una vez o más veces que una, por ejemplo, en intervalos regulares en un periodo de tiempo. En modalidades particulares, una proteína de enlace IL-23 se administra en un periodo de al menos cuatro meses o más, por ejemplo, por uno, dos, o tres meses o incluso indefinidamente. Para el tratamiento de afecciones crónicas, el tratamiento a largo plazo es por lo general mayormente efectivo. Sin embargo, para el tratamiento de afecciones agudas, la administración para periodos cortos, por ejemplo, de una a seis semanas, puede ser suficiente. En general, la proteína enlazada al antígeno se administra hasta que el paciente manifiesta un grado medicamente relevante o una mejoría sobre la línea de base para el indicador o indicadores seleccionados.

Si se contempla que una proteína enlazada al antígeno IL-23 es administrada al paciente en una cantidad y un tiempo suficiente para inducir una mejoría, preferentemente una mejoría prolongada, en al menos un indicador que refleje la severidad del trastorno o condición que se está tratando. Varios indicadores que reflejan el alcance del mal, enfermedad o condición puede ser evaluados determinando si la cantidad y tiempo del tratamiento es suficiente. Tales indicadores incluyen, por ejemplo, indicadores de la severidad de la enfermedad reconocidos clínicamente.

síntomas, o manifestaciones del desorden en cuestión. En una modalidad, se considera que una mejoría se ha prolongado si el sujeto presenta mejoría en al menos dos ocasiones separadas de dos a cuatro semanas. El grado de mejoría por lo general lo determina un físico, quién también puede emplear cuestionarios que son administrados al sujeto, como cuestionarios de calidad de vida desarrollados para una enfermedad dada.

Las modalidades particulares de métodos y composiciones de la invención, implican el uso de una proteína enlazada al antígeno IL-23 y uno o más antagonistas IL-23 adicionales, por ejemplo, dos o más proteínas enlazadas al antígeno de la invención, o una proteína enlazada al antígeno de la invención y uno o más IL-23 antagonistas. De igual manera se proporcionan proteínas enlazadas al antígeno IL-23 administradas solas o en combinación con otros agentes útiles para el tratamiento de la condición que aflige al paciente. Los ejemplos de dichos agentes incluyen ambos fármacos proteínicos y no proteínicos. Dichos agentes incluyen porciones terapéuticos que poseen propiedades anti inflamatorias (por ejemplo, agentes anti inflamatorios no esteroideos, esteroides, inmunomoduladores y/u otros inhibidores de citocina como aquellos que antagoniza, por ejemplo, IFN- γ , GM-CSF, IL-6, IL-8, IL-17, IL-22 y TNFs), o de una proteína enlazada al antígeno y uno o más de otros tratamientos (por ejemplo, cirugía, ultrasonido, o tratamiento efectivo para reducir la inflamación). Cuando múltiples terapeutas son co-administrados, las dosificaciones pueden ajustarse consecuentemente, como se reconoce o se sabe en la técnica. Los agentes útiles que pueden ser combinados con proteínas enlazadas al antígeno IL-23 incluyen

aquellas usados para tratamiento, por ejemplo, la enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa, como el aminosalicilato (por ejemplo, mesalazina), corticoesteroides (incluyendo prednisona), antibióticos como el metronidazol o ciprofloxacino (u otros
5 antibióticos útiles para el tratamiento, por ejemplo, los pacientes que presentan fistulas), e inmunosupresores como la azatioprina, 6-mercaptopurina, metotrexato, tacrolimus y ciclosporina. Dichos agentes pueden ser administrados de forma oral o por medio de otra vía, por ejemplo vía supositorio o
10 enema. Los agentes que pueden combinar se con proteínas de enlace antigénico IL-23 en el tratamiento de psoriasis incluyen corticoesteroides, calcipotrieno y otros derivados de la vitamina D, acetretin y otros derivados del ácido retionico, metotrexano, tacrolimus, y ciclosporina usado de manera tópica o sistemática.
15 Dichos agentes pueden administrarse de manera simultánea, consecutiva, alternativa o de acuerdo a cualquier otro régimen que permita el curso total de la terapia para su efectividad.

Además de los pacientes humanos, las proteínas enlazadas al antígeno IL-23 son útiles en el tratamiento de animales no
20 humanos, como las mascotas domésticas (perros, gatos, pájaros, primates, etc.), animales domésticos de granja (caballos de ganado, ovejas, cerdos, pájaros, etc.). En dichos casos, una dosificación apropiada puede determinarse de acuerdo al peso del animal. Por ejemplo, puede utilizarse una dosificación de 0.2-1 mg/kg. De manera alternativa, la dosificación se determina de acuerdo al área de la superficie del animal, un ejemplo de dosificación va de un intervalo de 0.1 -20 mg/m², o más preferentemente, de 5-12 mg/m². Para animales pequeños, como los

perros o gatos, una dosificación idónea es de 0.4 mg/kg. La proteína enlazada al antígeno IL-23 (preferentemente construida de genes derivados de las especies del receptor) se administra por medio de una inyección u otra vía idónea una o más veces por semana hasta que la condición del animal ha mejorado, o puede ser administrada de manera indefinida.

Los siguientes ejemplos, incluyendo los experimentos conducidos y los resultados logrados, son proporcionados sólo para propósitos ilustrativos y no deben ser interpretados como un límite del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Generación de Anticuerpo IL-23 humanos

Se usó tecnología XenoMouse™ (Amgen, Thousand Oaks, CA) para desarrollar anticuerpos monoclonales humanos que reconocen e inhiben la actividad IL-23 humana nativa mientras que escatima el IL-12 humano. Los anticuerpos también reconocen e inhiben IL-23 cynomologous recombinante pero no reconocen IL-23 de murino o rata.

Los anticuerpos se seleccionaron para reconocimiento e inhibición completa de IL-23 humano nativo obtenido de células dendríticas derivadas de monocito humano (MoDCs), usando el ensayo reportero de STAT-luciferasa descrito a continuación. Se aislaron monocitos humanos de células mononucleares de sangre periférica de donadores saludables usando selección negativa (Kit de Aislamiento de Monocito II, Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Se generaron MoDCs al cultivar monocitos con GM-CSF humano (50

000112

ng/ml) y IL-4 humano (100 ng/ml) durante 7 días en RPMI 1640 con medio completo de suero de bovino fetal al 10%. MoDCs luego se lavaron dos veces con PBS seguido por estimulación con CD40L humano (1 pg/ml) durante unas 48 horas adicionales. El
5 sobrenadante MoDC estimulado por CD40L contiene IL-23, IL-12, e IL-12/23p40. Los ELISAs se usan para determinar la cantidad de IL-12p70 (R&D System, Minneapolis, MN), IL-23 (eBiosciences, San Diego, CA) e IL-12/23p40 (R&D Systems). El ensayo STAT-luciferasa responde a IL-23 y no a IL-12 o a IL-12/23p40 libre, por lo tanto
10 el ensayo puede usarse con sobrenadantes crudos para evaluar la actividad IL-23. Para uso en el ensayo celular NK, descrito a continuación, el sobrenadante crudo IL-23 humano nativo se purificó usando una columna de afinida IL-23 seguido por cromatografía por exclusión de tamaño. Se determinó la
15 concentración usando un ELISA específico IL-23 (eBiosciences).

Los sobrenadantes de anticuerpo purificados también se probaron contra IL-23 humano recombinante (rhu) y IL-23 cynomolgous recombinante (cyno) en el ensayo STAT-luciferasa. De los anticuerpos probados que inhiben completamente el IL-23
20 humano recombinante, sólo la mitad de aquellos anticuerpos reconocen y completamente inhiben IL-23 humano nativo. El reconocimiento e inhibición completa de IL-23 humano recombinante no se predijo de, ni correlacionó para, reconocimiento e inhibición completa de IL-23 humano nativo. Como se muestra en las FIGURAS 1A y 1B, de los sobrenadantes de anticuerpo que completamente inhiben IL-23 humano recombinante, sólo la mitad de aquellos anticuerpos inhiben completamente IL-23 humano nativo. Aquellos anticuerpos que reconocen e inhiben completamente IL-23

humano nativo se seleccionaron para caracterización adicional.

EJEMPLO 2

Ensayos Funcionales

5 a) Ensayo STAT-luciferasa

Se conoce que IL-23 enlaza sus señales y receptor heterodimérico a través de JAK2 y Tyk2 para activar STAT 1, 3, 4 y 5. En este ensayo, se usan células transfectadas con un gen reportero de STAT/luciferasa para evaluar la capacidad de los anticuerpos IL-23 para inhibir bioactividad inducida por IL-23.

Las células de ovario de hámster chino que expresan el receptor IL-23 humano son transitoriamente transfectadas con reportero STAT-luciferasa durante la noche. Los anticuerpos IL-23 se diluyen en serie (12 puntos de diluciones en serie 1:4 iniciando en 37.5 pg/ml) en placas de 96 pozos. Se agrega IL-23 humano nativo (el método de preparación se describe en el Ejemplo 1) a cada pozo en una concentración de 2 ng/ml e incuba a temperatura ambiente durante 15-20 minutos. Las células transitoriamente transfectadas se agregan (8×10^3 células) a un volumen final de 100 μ l/pozo e incuban durante 5 horas a 37°C, CO₂ al 10%. Después de la incubación, las células se lisan usando 100 μ L/pozo de solución amortiguadora de lisis Glo (1 x) (Promega, Madison, Wisconsin) a temperatura ambiente durante 5 minutos. Cincuenta microlitros de lisado celular se agregan a una placa de 96 pozos junto con 50 μ L de sustrato de luciferasa Bright-Glo (Promega) y se leen en un luminómetro.

Puede realizarse el análisis estadístico usando software GraphPad PRISM (GraphPad Software, La Jolla, CA). Los resultados

. 000120

pueden expresarse como la media $\pm$ desviación estándar (SD).

Como se aprecia en la TABLA 5, todos los anticuerpos IL-23 inhiben potentemente y completamente el reportero STAT/luciferasa inducido por IL-23 humano nativo en una manera dependiente de dosis. Los anticuerpos también inhiben potentemente y completamente IL-23 humano recombinante (rhu) e IL-23 cyno (cyno) recombinante. Los anticuerpos todos tienen valores IC_{50} en el intervalo picomolar.

TABLA 5. Tabla de valores IC_{50} medios (pM) para anticuerpos IL-23 en el ensayo STAT-luciferasa.

Anticuerpo	huIL-23 nativo		rhuIL-23		IL-23 Cyno	
	$IC_{50} \pm SD$	Repeti- ciones	$IC_{50} \pm SD$	Repeti- ciones	$IC_{50} \pm SD$	Repeti- ciones
A	114 $\pm$ 70	3	190 $\pm$ 99	3	379 $\pm$ 213	3
B	45 $\pm$ 5	4	100 $\pm$ 59	4	130 $\pm$ 60	3
C	107 $\pm$ 31	3	211 $\pm$ 93	3	376 $\pm$ 89	3
D	65 $\pm$ 5	3	107 $\pm$ 30	3	184 $\pm$ 77	3
E	140 $\pm$ 52	3	142 $\pm$ 52	3	188 $\pm$ 59	3
F	86 $\pm$ 47	4	187 $\pm$ 116	4	366 $\pm$ 219	4
G	156 $\pm$ 74	5	296 $\pm$ 133	5	421 $\pm$ 174	5
H	192 $\pm$ 35	4	253 $\pm$ 184	4	1024 $\pm$ 533	4
I	208 $\pm$ 33	3	338 $\pm$ 140	3	650 $\pm$ 42	3
J	83 $\pm$ 54	2	36 $\pm$ 6	2	56 $\pm$ 2	2
K	71 $\pm$ 38	3	43 $\pm$ 20	3	61 $\pm$ 10	3
L	113 $\pm$ 870	3	23 $\pm$ 7	3	47 $\pm$ 1	3
M	34 $\pm$ 11	2	40 $\pm$ 8	2	56 $\pm$ 6	2
N	361 $\pm$ 164	3	145	1	238	1

b) Ensayo de célula NK

Se conoce que IL-23 actúa en células exterminadoras naturales para inducir expresión de citoquinas pro-inflamatorias, tales como interferón γ (IFN γ). En este ensayo, se usan células

000121

exterminadoras naturales (NK) primarias humanas para evaluar la capacidad de los anticuerpos IL-23 para inhibir actividad IFN γ inducida por IL-23 en células que expresan el receptor nativo para IL-23 humano.

5 Las células NK se aíslan de donadores humanos múltiples por medio de selección negativa (Kit de Aislamiento de Célula NK, Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Se agregan células NK purificadas (1×10^6 células/ml) a placas de 6 pozos en RPMI 1640 más medio
10 completo de suero de bovino fetal al 10% complementado con IL-2 humano recombinante (10ng/ml, R&D Systems, Minneapolis, MN), a un volumen final de 10ml/pozo. Las células se cultivan durante 7 días a 37°C, CO $_2$ al 5%. Las células NK activadas por IL-2 luego se estimulan con rhIL-23 o IL-23 cyno (10 ng/ml) y IL-18 humano recombinante (20ng/ml, R&D Systems, Minneapolis, MN) en presencia
15 de diluciones en serie (11 puntos de 1:3 diluciones en serie iniciando en 3pg/ml) de anticuerpos IL-23 durante 24 horas. Se miden los niveles IFN γ en el sobrenadante por ELISA IFN γ (R&D Systems, Minneapolis, MN) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

20 Puede realizarse el análisis estadístico usando software GraphPad PRISM. Los resultados pueden expresarse como la media $\pm$ desviación estándar (SD).

Como se aprecia en la TABLA 6, todos los anticuerpos inhiben potentemente expresión IFN γ inducida por IL-23 cyno y rhIL-23 en células NK en una manera dependiente de dosis. Los anticuerpos todos tienen valores IC $_{50}$ en el intervalo picomolar. Se realizó el ensayo en un subconjunto de anticuerpos usando IL-23 humano nativo (30pg/ml, el método de preparación se describe en el

000122

Ejemplo 1) y rhIL-18 (40 ng/ml, R&D Systems) y proporcionan los resultados mostrados en la TABLA 6. Consistente con la selección para anticuerpos específicos IL-23, estos anticuerpos anti-IL-23 no tienen efecto en la producción IFN γ estimulada por IL-12 en células NK usando el ensayo descrito arriba, mientras que un anticuerpo neutralizante específico IL-12p35, mAb219 (R&D Systems, Minneapolis, MN) inhibe potentemente IL-12 humano recombinante.

TABLA 6. Tabla de valores IC₅₀ medios (pM) para anticuerpos IL-23 en el ensayo celular NK.

Anticuerpo	huIL-23 nativo		rhIL-23		IL-23 Cyno	
	IC ₅₀ +/-SD	Repeti- ciones	IC ₅₀ +/-SD	Repeti- ciones	IC ₅₀ +/-SD	Repeti- ciones
A			42+/-12	2	31+/-21	2
B	85+/-30	2	48+/-30	3	19+/-8	2
C			32+/-19	4	29+/-16	2
D			37+/-21	2	29+/-19	2
E	158+/-50	2	57+/-14	3	21+/-3	2
F			25+/-15	2	21+/-17	2
G	152+/-72	2	45+/-30	3	23+/-8	2
H			29+/-28	2	33+/-17	2
I			69	1	52	1
J			4+/-3	2	5+/-3	2
K			7+/-2	2	8+/-6	2
L			3+/-1	2	4+/-1	2
M			3+/-1	2	4+/-1	2

c) Ensayo de Sangre Entera Humana

Se recolecta sangre entera humana de múltiples donadores saludables usando Repludan® (Bayer Pittsburgh, PA) como un anti-coagulante. La concentración final de Repludan® en sangre entera es 10 pg/ml. Una mezcla de estimulación de rhIL-23 o

000123

cyno IL-23 (concentración final 1 ng/ml) + rhIL-18 (concentración final 20 ng/ml) + rhIL-2 (concentración final 5 ng/ml) en RPMI 1640 + FBS al 10%, se agrega a una placa de 96 pozos, volumen final 20 µl/pozo. Se agregan anticuerpos IL-23 diluidos en serie (11 puntos de 1:3 diluciones en serie iniciando de 3pg/ml) en 20µl/pozo e incuban con la mezcla de estimulación durante 30 minutos a temperatura ambiente. Luego se agrega sangre entera (120 µl/pozo) y el volumen final se ajusta hasta 200 µl/pozo con RPMI 1640 + FBS al 10%. La concentración final de sangre entera es 60%. Las placas se incuban durante 24 horas a 37°C, CO₂ al 5%. Los sobrenadantes libres de célula se cosechan y se miden los niveles IFN γ de los sobrenadantes por ELISA IFN γ (R&D Systems) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Puede realizarse el análisis estadístico usando software GraphPad PRISM. Los resultados pueden expresarse como la media $\pm$ desviación estándar (SD).

Como se aprecia en la TABLA 7, todos los anticuerpos inhiben potentemente expresión IFN γ inducida por rhIL-23 e inducida por cyno-IL-23 en células de sangre entera en una manera dependiente de dosis. Los anticuerpos todos tienen valores IC₅₀ en el intervalo picomolar.

TABLA 7. Tabla de valores IC₅₀ medios (pM) para anticuerpos IL-23 en el ensayo de sangre entera humana IFN γ

	rhuIL-23		IL-23 Cyno	
Anticuerpo	IC ₅₀ +/-SD	Repeticiones	IC ₅₀ +/-SD	Repeticiones
B	117+/-94	7	161+/-95	6
E	29+/-8	3	54+/-33	3

000124

G	53+/-13	3	93+/-44	3
F	66+/-13	3	166+/-189	3
D	88+/-6	3	110+/-14	3
C	97+/-31	3	186+/-194	3

5 **d) Ensayo IL-22**

Se conoce que IL-23 es un inductor potente de citoquinas proinflamatorias. IL-23 actúa en células T de memoria y activadas y promueve la sobrevivencia y expansión de células Th17 que producen citoquinas proinflamatorias incluyendo IL-22. En este
10 ensayo, se usa sangre entera humana para evaluar la capacidad de los anticuerpos IL-23 para inhibir la producción de IL-22 inducida por IL-23.

Se conduce un ensayo de sangre entera de la misma manera como se describe arriba con la modificación de usar rhIL-23 o
15 cynoIL-23 en 1 ng/ml y rhIL-18 en 10ng/ml para inducir producción IL-22. Se determina la concentración IL-22 por ELISA IL-22 (R&D Systems, Minneapolis, MN).

Como se aprecia en la TABLA 8, los anticuerpos inhiben potencialmente producción IL-22 inducida por rhIL-23 e inducida
20 por cyno IL-23 en células de sangre entera en una manera dependiente de la dosis. Los anticuerpos todos tienen valores IC₅₀ en el intervalo picomolar.

TABLA 8. Tabla de valores IC₅₀ medios (pM) para anticuerpos IL-23 en el ensayo de sangre entera humana IL-22

	rhIL-23		IL-23 Cyno	
Anticuerpo	IC₅₀+/-SD	Repeticiones	IC₅₀+/-SD	Repeticiones
B	117+/-68	4	113+/-65	3
E	87+/-109	3	56+/-60	3

000125

G	83+/-59	3	66+/-45	3
----------	---------	---	---------	---

Ejemplo 3

Determinar la Constante de Disociación de Equilibrio (K_D) para

Anticuerpos anti-IL-23 Usando Tecnología KinExA

Se evalúa la afinidad de enlace de rhulL-23 para anticuerpos IL-23 usando un ensayo por exclusión cinético (ensayo KinExA, Sapidyne Instruments, Inc., Boise, ID). Las perlas de flujo rápido de Sefarosa 4 activadas con suero humano normal (NHS) (Amersham Biosciences, parte de GE Healthcare, Uppsala, Suecia), se pre-cubren con rhulL-23 y bloquean con solución amortiguadora Tris 1 M con 10mg/mL de BSA. 50pM de anticuerpo IL-23 se incuban con rhulL-23 (12 puntos de 1:2 diluciones iniciando de 800 pM) a temperatura ambiente durante 72 horas antes de que se corra a través de las perlas de Sefarosa recubiertas rhulL-23. La cantidad del anticuerpo enlazado a la perla se cuantifica por anticuerpo anti-humano-Fc de cabra etiquetado fluorescente (Cy5) (Jackson Immuno Research, West Grove, Pa.). La señal de enlace es proporcional a la cantidad de anticuerpo libre en equilibrio.

La constante de equilibrio de disociación (K_D) y la velocidad de asociación (K_{on}) se obtienen de un ajuste de curva usando software KinExA Pro. La velocidad de disociación (K_{off}) se deriva de: $K_D = K_{off}/K_{on}$

Como se aprecia en la TABLA 9, los anticuerpos tienen alta afinidad para enlace a IL-23 humano. Todos tienen valores K_D en el intervalo bajo para sub pM.

. 000126

TABLA 9. Tabla de velocidades K_D (pM), K_{on} (1/MS) y K_{off} (1/s)

Anticuerpo	K_D (pM)	K_{on} (1/MS)	K_{off} (1/s)
E	0.131	9.12E+05	1.4E-07
D	0.126	1.72E+06	2.2E-07
B	3.99	1.17E+06	4.7E-06
C	2.56	1.36E+06	4.1E-06
F	2.62	5.69E+05	1.5E-06
L	1.08	3.34E+06	3.7E-06
G	2.00	4.00E+05	8.1E-07

Ejemplo 4

Determinación de estructura usando Cristalografía de Rayos X

Una forma para determinar la estructura de un complejo de antígeno de anticuerpo es al usar cristalografía de rayos X, ver por ejemplo, Harlow and Lane Antibodies: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990), p.23. Se ha determinado la estructura de cristal de IL-23, (ver Lupardus and Garcia, J Mol Biol, 2008, 382: 931-941) y la estructura de cristal de un complejo IL-23/Fab se ha descrito, (ver Beyer et al. J Mol Biol, 2008. 382(4): 942-55). Se obtuvo la determinación estructural de IL-23 con fragmentos Fab de anticuerpos reivindicados en la presente usando cristalografía de rayos X.

Proteína para cristalización

Se usó un heterodímero IL-23 humano recombinantemente derivado para los estudios de cristalización (ver Beyer et al., supra). La secuencia de la subunidad p19 humana comprende de 20-189 residuos de SEQ ID NO: 145, la secuencia de señal de SEQ ID

NO:154 y una etiqueta 6-His de terminal C SEQ ID NO:155. La secuencia de la subunidad p40 humana se mutó de asparagina a glutamina en la posición 222 de SEQ ID NO:147 con objeto de prevenir la glicosilación en este sitio (Beyer, et al., supra).

5 Los Fabs derivados de Anticuerpo B y Anticuerpo E se expresaron en un andamio IgG1 que incorpora un sitio de desdoblamiento de caspasa. Los Fabs se procesaron por medio de desdoblamiento de proteasa.

10 Formación y cristalización de complejos

El complejo Fab de IL-23-Anticuerpo B se hizo al mezclar un exceso molar de 2X del Fab de Anticuerpo B con el IL-23 heterodimérico humano descrito arriba. El complejo se purificó por cromatografía por exclusión de tamaño para remover el exceso de Fab
15 de Anticuerpo B y concentró a -12 mg/ml para cristalización. El complejo Fab de IL-23-Anticuerpo B se cristaliza en Hepes 0.1 M pH 7, PEG 8000 al 8%.

El complejo Fab de IL-23-Anticuerpo E se hizo al mezclar un exceso molar de 2X del Fab de Anticuerpo E con el IL-23
20 heterodimérico humano descrito arriba. El complejo se metiló usando un Kit de Metilación JBS de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Jena Bioscience, Jena, Alemania). El complejo luego se trató con PNGasa para desglicosilar la proteína. Después de estos tratamientos, el complejo se purificó por cromatografía por exclusión de tamaño para remover el exceso de Fab de Anticuerpo E y concentró a 13.5 mg/ml para cristalización. El complejo de Fab de IL-23-Anticuerpo E cristalizado en Tris 0.1 M pH 8.5, cloruro de magnesio 0.2 M, PEG 4000 al 15%. 000128

Recolección de datos y determinación de estructura

Los cristales Fab de IL-23-Anticuerpo B crecen en el grupo de espacio $P2_1$ con las dimensiones de célula unitaria $a=70.93$, $b=71.27$, $c=107.37$ Å, $\beta=104.98^\circ$ y se difractan a resolución 2.0 Å. La estructura de Fab de IL-23-Anticuerpo B se resolvió por reemplazo molecular con el programa MOLREP (CCP4, *The CCP4 suite: programs for protein crystallography*. Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 1994. 50(Pt 5): p. 760-3) usando la estructura IL-23 (Beyer et al. supra) como el modelo de búsqueda de inicio. Manteniendo la solución IL-23 fija, un dominio variable de anticuerpo se usó como un modelo de búsqueda. Manteniendo la solución de dominio variable de IL-23-anticuerpo fija, se usó un dominio constante de anticuerpo como un modelo de búsqueda. La estructura completa se mejoró con múltiples rondas de construcción de modelo con Quanta y refinamiento con cnx (Brunger, et al., Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 1998, 54(Pt 5): p. 905-21).

Las distancias entre los átomos de proteína se calcularon usando el programa PyMOL (DeLano, W.L. The PyMOL Graphics System. Palo Alto, 2002) (Schrodinger, LLC; New York, NY)). Los aminoácidos se eligieron si al menos un átomo se ubicó dentro del umbral de distancia requerida para la proteína compañera.

Los límites de las hélices A, B, C y D de la subunidad p19 de IL-23 cuando enlaza el Fab de Anticuerpo B incluyen 28-47 residuos de hélice A, 86-105 residuos de hélice B, 119-134 de residuos de hélice C y 154-187 de residuos de hélice D de SEQ ID NO:145.

000129

Las regiones de interacción en la subunidad IL-23p19 cuando se enlazan al Fab de Anticuerpo B incluyen residuos dentro de Ser46-Glu58, Glu112-Glu123 y Pro155-Phe163 de SEQ ID NO:145.

Los residuos de aminoácido de subunidad IL-23p19 con átomos
 5 4 Å o menos del Fab de Anticuerpo B incluyen Ser46, Ala47, His48, Prc49, Leu50, His53, Met54, Asp55, Glu58, Pro113, Ser114, Leu115, Leu116, Pro120, Val121, Trp156, Leu159, Leu160, Arg162 y Phe163 de SEQ ID NO:145. Los residuos de aminoácido IL-23p19 con átomos entre 4 Å y 5 Å del Fab de Anticuerpo B incluyen Val51,
 10 Arg57, Glu112, Asp118, Ser119, Gln123, Pro155 de SEQ ID NO:145.

Los residuos de aminoácido de subunidad IL-23p40 con átomos 4 Å o menos del Fab de Anticuerpo B incluyen Glu122 y Lys124 de SEQ ID NO:147.

Los residuos de aminoácido de cadena pesada de Fab de
 15 Anticuerpo B con átomos 4 Å o menos del heterodímero IL-23 incluyen Gly32, Gly33, Tyr34, Tyr35, His54, Asn58, Thr59, Tyr60, Lys66, Arg101, Gly102, Phe103, Tyr104 y Tyr105 de SEQ ID NO:46. Los residuos de aminoácido de cadena pesada de Fab de Anticuerpo B con átomos $\leq$ 5 Å del heterodímero IL-23 incluyen Ser31, Gly32,
 20 Gly33, Tyr34, Tyr35, His54, Ser56, Asn58, Thr59, Tyr60, Lys66, Arg101, Gly102, Phe103, Tyr104 y Tyr105 de SEQ ID NO:46.

Los residuos de aminoácido de cadena ligera de Fab de Anticuerpo B con átomos 4 Å o menos del heterodímero IL-23 incluyen Ser30, Ser31, Trp32, Tyr49, Ser52, Ser53, Ala91, Asn92, Ser93, Phe94, y Phe96 de SEQ ID NO: 15. Los residuos de aminoácido de cadena ligera de Fab de Anticuerpo B con átomos $\leq$ 5 Å del heterodímero IL-23 incluyen Ser30, Ser31, Trp32, Tyr49, Ala50, Ser52, Ser53, Ser56, Ala91, Asn92, Ser93, Phe94, y Phe96

de SEQ ID NO:15.

Los cristales del complejo Fab de IL-23-Anticuerpo E crecen en el grupo de espacio P222₁ con dimensiones de célula unitaria a=61.60, b=97.59, c=223.95 Å y se difractan para resolución 3.5 Å. La estructura de complejo Fab de IL-23-Anticuerpo E se resolvió por reemplazo molecular con el programa Phaser (CCP4, supra) usando la estructura IL-23, un dominio variable de anticuerpo, y un dominio constante de anticuerpo como los tres modelos de búsqueda de inicio, como se describe arriba. La estructura completa se mejoró con múltiples rondas de construcción modelo con Quanta y refinamiento con cnx (Brunger, et al., supra). El dominio constante Fab de Anticuerpo E se dejó fuera de la estructura refinada final debido a cada densidad de electrón pobre para tal porción de la proteína.

Las regiones de interacción en la subunidad IL-23p19 identificada cuando enlaza al Fab de Anticuerpo E incluyen residuos dentro de Ser46-His53, Glu112-Val120 y Trp156-Phe163 de SEQ ID NO:145.

Los residuos de aminoácido IL-23p19 con átomos 4 Å o menos del Fab de Anticuerpo E incluyen Ser46, Ala47, His48, Pro49, Leu50, Glu112, Pro113, Ser114, Leu115, Leu116, Pro117, Asp118, Ser119, Pro120, Trp156, Leu159, Leu160 y Phe163 de SEQ ID NO: 145. Los residuos de aminoácido IL-23p19 con átomos entre 4 Å y 5 Å del Fab de Anticuerpo E incluyen His53 de SEQ ID NO:145.

Los residuos de aminoácido IL-23p40 con átomos 4 Å o menos del Fab de Anticuerpo E incluyen Lys121, Glu122, Pro123 y Asn125 de SEQ ID NO:147.

Los residuos de aminoácido de cadena pesada Fab de

000131

Anticuerpo E con átomos 4 Å o menos del heterodímero IL-23 incluyen Gly26, Phe27, Thr28, Ser31, Tyr53, Tyr59, Tyr102, Ser104, Ser105, Trp106, Tyr107, y Pro108 de SEQ ID NO:31. Los residuos de aminoácido de cadena pesada Fab de Anticuerpo E con

5 átomos ≤ 5 Å del heterodímero IL-23 incluye Gln1, Gly26, Phe27, Thr28, Ser30, Ser31, Tyr32, Trp52, Tyr53, Tyr59, Arg100, Tyr102, Thr103, Ser104, Ser105, Trp106, Tyr107, y Pro108 de SEQ ID NO:31.

Los residuos de aminoácido de cadena ligera Fab de Anticuerpo E con átomos 4 Å o menos del heterodímero IL-23 incluyen Ala31,

10 Gly32, Tyr33, Asp34, Tyr51, Gly52, Asn55, Lys68, y Tyr93 de SEQ ID NO:1. Los residuos de aminoácido de cadena ligera Fab de Anticuerpo B con átomos ≤ 5 Å del heterodímero IL-23 incluyen Thr29, Ala31, Gly32, Tyr33, Asp34, Tyr51, Gly52, Asn55, Lys68, Tyr93, y Trp100 de SEQ ID NO:1.

15

Ejemplo 5

Determinación de los Residuos de Contacto de Complejo de IL-23-Anticuerpo a través de Diferencias de Área superficial Accesible de

Solvente

20 El residuo se pone en contacto en el paratopo (la porción del anticuerpo que reconoce el antígeno) y la porción del antígeno que enlaza el enlace por el paratopo en un complejo Fab de IL-23-Anticuerpo B humano y en un complejo Fab de IL-23-Anticuerpo E humano se determinaron usando diferencias de área superficial accesible de solvente. Los cálculos del área superficial accesible de solvente se realizaron usando Ambiente de Operación Molecular (Chemical Computing Group, Montreal, Quebec).

Las diferencias del área superficial accesible de solvente de

000132

los residuos de paratopo en el complejo Fab de IL-23-Anticuerpo B se calcularon al ajustar los residuos Fab de Anticuerpo B como el ajuste deseado. La información estructural obtenida en el Ejemplo 4 para el complejo Fab de IL-23-Anticuerpo B se usó y el área superficial accesible de solvente del residuo de los residuos de aminoácido del Fab de Anticuerpo B en presencia del heterodímero IL-23 se calcularon y representaron las "áreas de enlace" para el ajuste.

El área superficial accesible de solvente del residuo de cada uno de los residuos Fab de Anticuerpo B en ausencia del antígeno IL-23 se calcularon y representaron las "áreas libres" del ajuste.

Las "áreas de enlace" luego se sustrajeron de las "áreas libres" resultando en la "diferencia de área superficial expuesta al solvente" para cada residuo en el ajuste. Los residuos Fab de Anticuerpo B que no han cambiado en área superficial, o una diferencia cero, no tienen contacto con los residuos del antígeno IL-23 cuando se forman en complejo. Los residuos Fab de Anticuerpo B que tienen un valor de diferencia $\geq 10 \text{ \AA}^2$ se consideraron para estar en contacto importante con residuos en el antígeno IL-23 de manera que estos residuos Fab de Anticuerpo B fueron al menos parcialmente para ocluirse completamente cuando el Fab de Anticuerpo B se enlazó a IL-23 humano. Este ajuste de residuos Fab de Anticuerpo B hace el "parche de cubierta", los residuos involucrados en la estructura de la interfaz cuando el Fab de Anticuerpo B se enlaza a IL-23 humano, ver Tablas 10 y 11. Los residuos Fab de Anticuerpo B en este parche de cubierta no pueden involucrarse en interacciones enlazadas con residuos del antígeno IL-23, pero la mutación de cualquier residuo

sencillo dentro del parche de cubierta puede introducir diferencias energéticas que deben impactar el enlace Fab de Anticuerpo B a IL-23 humano. Con la excepción de Tyr49, todos de los residuos se ubican en las regiones CDR de las cadenas ligeras y pesadas Fab de Anticuerpo B. Estos residuos también estuvieron dentro de 5Å o menos del antígeno II-23 cuando enlaza al Fab de Anticuerpo B, como se describe en el Ejemplo 4.

Tabla 10. Diferencias del Área superficial de Accesibilidad del Solvente para Cadena Ligera Fab de Anticuerpo B

Número AHO de residuo	Posición del Residuo SEQ ID NO:15	Diferencia del área de superficie expuesta al solvente (Å²)
Ser32	Ser30	44.9
Ser33	Ser31	41.1
Trp40	Trp32	79.0
Tyr57	Tyr49	40.7
Ala58	Ala50	20.3
Ser68	Ser52	43.6
Ser69	Ser53	38.9
Ser72	Ser56	19.1
Asn110	Asn92	34.0
Phe135	Phe94	51.4

Tabla 11. Diferencias del Área superficial de Accesibilidad del Solvente

Número AHO de residuo	Posición del Residuo SEQ ID NO:46	Diferencia del área de superficie expuesta al solvente (Å²)
Ser33	Ser31	18.2
Gly34	Gly32	49.5
Gly38	Gly33	33.8
Tyr39	Tyr34	51.4
Tyr40	Tyr35	30.7
His59	His54	29.5
Asn67	Asn58	66.7
Thr68	Thr59	26.0
Tyr69	Tyr60	59.4
Lys75	Lys66	32.6
Arg110	Arg101	47.2
Gly111	Gly102	21.7
Phe112	Phe103	35.5
Tyr133	Tyr104	83.0
Tyr134	Tyr105	91.7

000134

5 Las diferencias del área superficial accesible de solvente de los residuos en el complejo Fab de IL-23-Anticuerpo E se calcularon como se describe arriba. Los residuos Fab de Anticuerpo E que tienen un valor de diferencia $\geq 10 \text{ Å}^2$ se consideraron para estar en contacto importante con residuos en el
10 antígeno IL-23 y aquellos residuos Fab de Anticuerpo E fueron al menos parcialmente para ocluirse completamente cuando el Fab de Anticuerpo E se enlazó a IL-23 humano. Este ajuste de residuos Fab de Anticuerpo E hace el parche de cubierta, los residuos involucrados en la estructura de la interfaz cuando el Fab de
15 Anticuerpo E se enlaza a IL-23 humano, ver Tablas 12 y 13. Los residuos Fab de Anticuerpo E en este parche de cubierta no pueden involucrarse en interacciones enlazadas con residuos del antígeno IL-23, pero la mutación de cualquier residuo sencillo dentro del parche de cubierta puede introducir diferencias energéticas que
20 deben impactar el enlace de Fab de Anticuerpo E a IL-23 humano. Para la mayor parte, estos residuos de parche de cubierta se ubicaron dentro de las regiones CDR de las cadenas ligeras y pesadas Fab de Anticuerpo E. Estos residuos también estuvieron dentro de 5 Å o menos del antígeno IL-23 cuando enlaza al Fab de Anticuerpo E, como se describe en el Ejemplo 4.

. 000135

Tabla 12. Diferencias del Área superficial de Accesibilidad del Solvente para Cadena Ligera Fab de Anticuerpo E

Número AHO de residuo	Posición del Residuo SEQ ID NO:1	Diferencia del área de superficie expuesta al solvente (Å²)
Ala33	Ala31	11.6
Gly34	Gly32	51.2
Tyr39	Tyr33	47.2
Asp40	Asp34	36.8
Tyr57	Tyr51	16.1
Gly58	Gly52	11.1
Asn69	Asn55	29.4
Lys82	Lys68	20.1
Tyr109	Tyr93	27.3
Ser135	Ser98	11.3

Tabla 13. Diferencias de Área superficial de Accesibilidad del Solvente para Cadena Pesada Fab del Anticuerpo E

Número AHO de residuo	Posición del Residuo SEQ ID NO:31	Diferencia del área de superficie expuesta al solvente (Å²)
Gln1	Gln1	41.1
Gly27	Gly26	24.6
Thr30	Thr28	82.2
Ser33	Ser31	40.7
Tyr39	Tyr32	30.7
Trp59	Trp52	11.3
Tyr60	Tyr53	44.7
Tyr69	Tyr59	42.4
Lys86	Lys76	17.4
Gly111	Gly101	12.8
Tyr112	Tyr102	103.1
Ser114	Ser104	21.0
Ser115	Ser105	91.4
Trp131	Trp106	145.0
Tyr132	Tyr107	71.6
Pro133	Pro108	20.4

Las diferencias del área superficial accesible al solvente de la porción del enlace de heterodímero IL-23 por el paratopo

000136

del Fab de Anticuerpo B se calcularon al ajustar los residuos de heterodímero IL-23 como el ajuste deseado. La información estructural obtenida en el Ejemplo 4 para el complejo Fab-IL-23 de Anticuerpo B se usó y el área superficial accesible de solvente del residuo de los residuos de aminoácido del heterodímero IL-23 en presencia de la Fab de Anticuerpo B se calcularon y representan las áreas de enlace para el ajuste.

El área superficial accesible de solvente del residuo de cada uno de los residuos de heterodímero IL-23 en ausencia del Fab de Anticuerpo B se calcularon y representaron las áreas libres del ajuste.

Como se describe arriba, las áreas de enlace se sustrajeron de las áreas libres resultando en la diferencia de área superficial expuesta a solvente para cada residuo IL-23. Los residuos del heterodímero IL-23 que no tienen cambio en el área superficial, o una diferencia cero, no tiene contacto con los residuos del Fab de Anticuerpo B cuando de forma en complejo. Los residuos del heterodímero IL-23 que tienen un valor de diferencia $\geq 10 \text{ Å}^2$ se consideraron para estar en contacto importante con residuos del Fab de Anticuerpo B y estos residuos del heterodímero IL-23 fueron al menos parcialmente para ocluirse completamente cuando el heterodímero IL-23 humano se enlazó al Fab de Anticuerpo B. Este ajuste de residuos del heterodímero IL-23 hace el parche de cubierta, los residuos involucrados en la estructura de la interfaz cuando el heterodímero IL-23 humano se enlaza al Fab de Anticuerpo E, ver Tabla 14. Los residuos del heterodímero IL-23 en este parche de cubierta no pueden involucrarse todos en interacciones enlazadas con residuos en el

Fab de Anticuerpo B, pero la mutación de cualquier residuo sencillo dentro del parche de cubierta puede introducir diferencias energéticas que deben impactar el enlace de Fab de Anticuerpo B a IL-23 humano. Estos residuos también están dentro de 4Å o menos del Fab de Anticuerpo B, como se describe en el Ejemplo 4.

Tabla 14. Diferencias del Área superficial de Accesibilidad del Solvente para residuos del heterodímero IL-23

Residuos p19 (SEQ ID NO: 145)	Diferencia del área de superficie expuesta al solvente (Å ²)
Ser46	26.5
Ala47	12.7
Pro49	59.6
Leu50	122.2
His53	47.8
Met54	13.9
Asp55	20.5
Arg57	14.6
Glu58	96.5
Glu112	29.7
Pro113	64.8
Ser114	30.0
Leu115	31.4
Leu116	60.0
Asp118	14.4
Ser119	19.7
Pro120	64.7
Pro155	19.4
Typ156	61.9
Leu159	72.8
Leu160	27.0
Arg162	14.4
Phe163	67.5
residuos p40 (SEQ ID NO: 147)	
Glu122	29.1
Lys124	60.9

Las diferencias del área superficial accesible al solvente de la porción del enlace de heterodímero IL-23 por el paratopo del Fab de Anticuerpo E se calcularon como se describe arriba. Los residuos del heterodímero IL-23 que tienen un valor de diferencia ≥ 10 Å² se consideraron para estar en contacto importante con residuos del Fab de Anticuerpo E y estos residuos

del heterodímero II-23 fueron al menos parcialmente para ocluirse completamente cuando el heterodímero IL-23 humano se enlazó al Fab de Anticuerpo E. este ajuste de residuos del heterodímero IL-23 hizo el parche de cubierta, los residuos involucrados en la estructura de la interfaz cuando el heterodímero IL-23 humano se enlaza al Fab de Anticuerpo E, ver Tabla 15. Los residuos del heterodímero II-23 en este parche de cubierta no pueden todos involucrarse en interacciones enlazadas con residuos en el Fab de Anticuerpo E, pero la mutación de cualquier residuo sencillo dentro del parche de cubierta puede introducir diferencias energéticas que deben impactar el enlace de Fab de Anticuerpo E a IL-23 humano. Estos residuos también están dentro de 5Å o menos del Fab de Anticuerpo E, como se describe en el Ejemplo 4.

000139

Tabla 15. Diferencias del Área superficial de Accesibilidad del Solvente para residuos del heterodímero IL-23.

residuos p19 (SEQ ID NO: 145) 145		Diferencia del área de superficie rea expuesta al solvente (Å²)
Ser46		18.7
Ala47		14.9
Pro49		79.8
Leu50		99.5
His53		61.2
Glu112		62.8
Pro113		45.7
Ser114		69.5
Leu115		50.3
Leu116		127.2
Pro117		54.1
Asp118		37.0
Pro120		18.8
Pro155		16.9
Trp156		140.7
Leu159		21.8
Leu160		17.0
Phe163		56.6
residuos p40 (SEQ ID NO: 147) 147		
Lys121		86.2
Glu122		21.8
Pro123		22.1
Asn125		26.7
Arg283		22.6

NOVEDAD DE LA INVENCION

Habiendo descrito la presente invención, se considera como novedad, y por lo tanto se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes:

000'40

REIVINDICACIONES

1. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23, caracterizada porque comprende al menos una región variable de cadena pesada que comprende una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste de:

a) una CDRH1 que difiere por no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido de una CDRH1 como se muestra en la TABLA 3;

b) una CDRH2 que difiere por no más de tres sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácido de una CDRH2 como se muestra en la TABLA 3;

c) una CDRH3 que difiere por no más de tres sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácido de una CDRH3 como se muestra en la TABLA 3; y

que comprende al menos una región variable de cadena ligera que comprende una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 seleccionada del grupo que consiste de:

d) una CDRL1 que difiere por no más de tres sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácido de una CDRL1 como se muestra en la TABLA 3;

e) una CDRL2 que difiere por no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido de una CDRL2 como se muestra en la TABLA 3;

f) una CDRL3 que difiere por no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido de una CDRL3 como se muestra en la TABLA 3.

2. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad

- 000141

con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende al menos una región variable de cadena pesada que comprende una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste de:

5 a) una CDRH1 que difiere por no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido de una CDRH1 como se muestra en la TABLA 3;

b) una CDRH2 que difiere por no más de dos sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácido de una CDRH2 como se muestra en la TABLA 3;

10 c) una CDRH3 que difiere por no más de dos sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácido de una CDRH3 como se muestra en la TABLA 3; y

también comprende al menos una región variable de cadena ligera que comprende una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3
15 seleccionada del grupo que consiste de:

d) una CDRL1 que difiere por no más de dos sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácido de una CDRL1 como se muestra en la TABLA 3;

20 e) una CDRL2 que difiere por no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido de una CDRL2 como se muestra en la TABLA 3;

f) una CDRL3 que difiere por no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido de una CDRL3 como se muestra en la TABLA 3.

3. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende al menos una región variable de cadena pesada que comprende una CDRH1, CDRH2 y una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste de:

000142

a) una CDRH1 que difiere por no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido de una CDRH1 como se muestra en la TABLA 3;

b) una CDRH2 que difiere por no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido de una CDRH2 como se muestra en la TABLA 3;

c) una CDRH3 que difiere por no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido de una CDRH3 como se muestra en la TABLA 3; y

10 también comprende al menos una región variable de cadena ligera que comprende una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 seleccionada del grupo que consiste de:

d) una CDRL1 que difiere por no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido de una CDRL1 como se muestra en la TABLA 3;

e) una CDRL2 que difiere por no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido de una CDRL2 como se muestra en la TABLA 3;

f) una CDRL3 que difiere por no más de una sustitución, inserción o eliminación de aminoácido de una CDRL3 como se muestra en la TABLA 3.

4. La proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 caracterizada porque es seleccionada del grupo que consiste de a) una proteína de enlace al antígeno que tiene CDRH1 de SEQ ID NO:129, CDRH2 de SEQ ID NO:132, CDRH3 de SEQ ID NO:136, y CDRL1 de SEQ ID NO:123, CDRL2 de SEQ ID NO:81, y CDRL3 de SEQ ID NO:76;

b) una proteína de enlace al antígeno que tiene CDRH1 de SEQ

000143

ID NO:131, CDRH2 de SEQ ID NO: 134, CDRH3 de SEQ ID NO:137 y CDRL1 de SEQ ID NO:124, CDRL2 de SEQ ID NO:126 y CDRL3 de SEQ ID NO:128;

c) a) una proteína de enlace al antígeno que tiene CDRH1 de
5 SEQ ID NO:130, CDRH2 de SEQ ID NO:133, CDRH3 de SEQ ID NO:99 y CDRL1 de SEQ ID NO:68, CDRL2 de SEQ ID NO:69, y CDRL3 de SEQ ID NO:67; y

d) una proteína de enlace al antígeno que tiene CDRH1 SEQ ID NO:91, CDRH2 SEQ ID NO:135, CDRH3 SEQ ID NO:138 y CDRL1 SEQ ID
10 NO:125, CDRL2 SEQ ID NO:127, y CDRL3 SEQ ID NO:64.

5. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 1 caracterizada porque comprende:

una CDRH1 seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 91 , 94, 97, 100, y 103;

15 una CDRH2 seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO:92, 95, 98, 101, 104, 107, y 110;

una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 93, 96, 99, 102, y 105;

20 una CDRL1 seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 62, 65, 68, 71, y 74;

una CDRL2 seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO:63, 66, 69, 72, 75, y 78; y

una CDRL3 seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO:64, 67, 70 y 73.

6. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende:

una CDRH1 seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 91, 106, 109, 112, y 115;

000144

una CDRH2 seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 113, 116, 118, 120, 121, y 122;

una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 108, 111, 114, 117, y 119;

5 una CDRL1 seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 77, 80, 83, 85, 86, 87, 88, 89 y 90;

una CDRL2 es SEQ ID NO: 81; y

una CDRL3 seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 76, 79, 82 y 84.

10 7. La proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 caracterizada porque comprende al menos una región variable de cadena pesada y al menos una región variable de cadena ligera, seleccionada del grupo que consiste de:

a) una región variable de cadena pesada que comprende
15 residuos de aminoácido 31-35, 50-65 y 99-113 de SEQ ID NO:31; y

una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácido 23-36, 52-58 y 91-101 de SEQ ID NO:1;

b) una región variable de cadena pesada que comprende
residuos de aminoácido 31-35, 50-65 y 99-110 de SEQ ID NO:34 y
20 región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácido 31-35, 50-66 y 99-110 de SEQ ID NO:36; y

una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácido 23-36, 52-62 y 97-105 de SEQ ID NO:4;

c) una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácido 31-35, 50-66 y 99-114 de SEQ ID NO:38; y

una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácido 23-34, 50-61 y 94-106 de SEQ ID NO:7;

d) una región variable de cadena pesada que comprende

000145

residuos de aminoácido 31-35, 50-66 y 99-114 de SEQ ID NO:40; y

una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácido 24-34, 50-56 y 94-106 de SEQ ID NO:9;

5 e) una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácido 31-35, 50-66 y 99-114 de SEQ ID NO:42; y

una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácido 23-34, 50-61 y 94-106 de SEQ ID NO:11;

f) una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácido 31-35, 50-65 y 98-107 de SEQ ID NO:44; y

10 una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácido 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:13;

g) una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácido 31-37, 52-67 y 100-109 de SEQ ID NO:46 o 153; y

15 una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácido 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO: 15;

h) una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácido 31-37, 52-67 y 100-109 de SEQ ID NO:48; y

20 una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácido 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:17;

i) una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácido 31-37, 52-67 y 101-109 de SEQ ID NO:50; y

una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácido 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:19;

j) una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácido 31-35, 50-65 y 98-107 de SEQ ID NO: 52; y

una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácido 24-34, 50-56 y 98-107 de SEQ ID NO:21;

000146

k) una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácido 31-37, 52-67 y 100-109 de SEQ ID NO:54; y

una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácido 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:23;

5 l) una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácido 31-37, 52-67 y 100-109 de SEQ ID NO:56; y

una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácido 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:25; y

m) una región variable de cadena pesada que comprende
10 residuos de aminoácido 31-37, 52-57 y 100-109 de SEQ ID NO:58; y

una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácido 24-34, 500-56 y 89-97 de SEQ ID NO:27.

8. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 1 caracterizada porque comprende al menos
15 una región variable de cadena pesada y al menos una región variable de cadena ligera.

9. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 1 caracterizada porque comprende al menos
20 dos regiones variables de cadena pesada y al menos dos regiones variables de cadena ligera.

10. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 caracterizada porque comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en donde la secuencia de región variable de cadena pesada difiere por no más de 13 sustituciones, adiciones y/o eliminaciones de aminoácidos de una secuencia de región variable de cadena pesada como se muestra en la TABLA 2; y en donde la secuencia de región variable de cadena ligera difiere por no más de 13 sustituciones,

000147

adiciones y/o eliminaciones de aminoácidos de una secuencia de región variable de cadena ligera como se muestra en la TABLA 1.

11. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 10, caracterizada porque la secuencia de
5 región variable de cadena pesada difiere por no más de 11 sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácido de una secuencia de región variable de cadena pesada como se muestra en la TABLA 2.

12. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad
10 con la reivindicación 10, caracterizada porque la secuencia de región variable de cadena pesada difiere por no más de 5 sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácido de una secuencia de región variable de cadena pesada como se muestra en la TABLA 2.

13. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad
15 con la reivindicación 10, caracterizada porque la secuencia de región variable de cadena pesada difiere por no más de 2 sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácido de una secuencia de región variable de cadena pesada como se muestra en
20 la TABLA 2.

14. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 10, caracterizada porque la secuencia de región variable de cadena pesada difiere por no más de 1 sustitución, inserción o eliminación de aminoácidos de una secuencia de región variable de cadena pesada como se muestra en la TABLA 2.

15. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 10, caracterizada porque la secuencia de

región variable de cadena ligera difiere por no más de 7 sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácido de una secuencia de región variable de cadena ligera como se muestra en la TABLA 1.

5 16. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 10, caracterizada porque la secuencia de región variable de cadena ligera difiere por no más de 4 sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácido de una secuencia de región variable de cadena ligera como se muestra en
10 la TABLA 1.

 17. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 10, caracterizada porque la secuencia de región variable de cadena ligera difiere por no más de 2 sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácido de una
15 secuencia de región variable de cadena ligera como se muestra en la TABLA 1.

 18. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 10, caracterizada porque la secuencia de región variable de cadena ligera difiere por no más de 1
20 sustitución, inserción y/o eliminación de aminoácido de una secuencia de región variable de cadena ligera como se muestra en la TABLA 1.

 19. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 caracterizada porque es seleccionada del grupo que consiste de

 a) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:140 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 30;

 b) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:141 y

000149

una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:61;

c) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:142 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:4; y

d) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:143 y
5 una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:139.

20. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 caracterizada porque comprende

una región variable de cadena pesada que comprende de una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90% de identidad de
10 secuencia para SEQ ID NO:31, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56 y 58; y

una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90% de identidad de secuencia para SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23,
15 25 y 27.

21. La proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 20, caracterizada porque

una región variable de cadena pesada comprende de una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95% de identidad de
20 secuencia para SEQ ID NO:31, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56 y 58; y

una región variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95% de identidad de secuencia para SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25 y 27.

22. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 20, caracterizada porque comprende

una región variable de cadena pesada que comprende de una

000150

secuencia de aminoácidos que tiene al menos 97% de identidad de secuencia para SEQ ID NO:31, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56 y 58; y

una región variable de cadena ligera que comprende una
5 secuencia de aminoácidos que tiene al menos 97% de identidad de secuencia para SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25 y 27.

23. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 20, caracterizada porque
10 comprende

una región variable de cadena pesada que comprende de una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98% de identidad de secuencia para SEQ ID NO:31, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56 y 58; y

15 una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98% de identidad de secuencia para SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25 y 27.

24. Una proteína de enlace al antígeno aislada de
20 conformidad con la reivindicación 20, caracterizada porque comprende

una región variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58 y 153, y

una región variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO:13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, y 27.

25. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 20, caracterizada porque

000151

comprende

una región variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 31, 34, 36, 38, 40 y 42, y

una región variable de cadena ligera seleccionada del grupo
5 que consiste de SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9 y 11.

26. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 caracterizada porque comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste de:

10 a) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:31 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:1;

b) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:34 o 36 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:4;

c) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:38 y
15 una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 7;

d) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:40 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:9;

e) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:42 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 11;

20 f) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:44 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:13;

g) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:46 o 153 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:15;

h) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:48 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:17;

i) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:50 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 19;

j) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:52 y

000152

una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:21;

k) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:54 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:23;

l) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:56 y
5 una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:25; y

m) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:58 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:27.

27. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 humano, caracterizada porque el parche de cubierta formado
10 cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano comprende contactos de residuos 30, 31, 32, 49, 50, 52, 53, 56, 92 y 94 de SEQ ID NO:15, en donde los contactos de residuo tienen un valor de diferencia de mayor de o igual a 10 Å² como se determina por área superficial expuesta al solvente.

15 28. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 humano, caracterizada porque el parche de cubierta formado cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano comprende contactos de residuo 31-35, 54, 58-60, 66, y 101-105 de
20 SEQ ID NO:46, en donde los contactos de residuo tienen un valor de diferencia de mayor de o igual a 10 Å² como se determina por el área superficial expuesta al solvente.

29. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 humano, caracterizada porque el parche de cubierta formado cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano comprende contactos de residuo 31-34, 51, 52, 55, 68, 93 y 98 de SEQ ID NO:1, en donde los contactos de residuo tienen un valor de diferencia de mayor de o igual a 10 Å² como se determina por el área superficial expuesta al solvente.

000153

30. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 humano, caracterizada porque el parche de cubierta formado cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano comprende contactos de residuo 1, 26, 28, 31, 32, 52, 53, 59, 76, 101, 102 y 104-108 de SEQ ID NO:31, en donde los contactos de residuo tienen un valor de diferencia de mayor de o igual a 10 Å² como se determina por el área superficial expuesta al solvente.

31. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 humano, caracterizada porque cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano, la proteína de enlace al antígeno es de 5Å o menos de 32-35, 54, 58-60, 66 y 101-105 residuos de SEQ ID NO:46, como se determina por cristalografía de rayos X.

32. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 31, caracterizada porque cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano, la proteína de enlace al antígeno es de 5Å o menos de 31-35, 54, 56, 58-60, 66 y 101-105 residuos de SEQ ID NO:46.

33. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 humano, caracterizada porque cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano, la proteína de enlace al antígeno es de 5Å o menos de 30-32, 49, 52, 53, 91-94 y 96 residuos de SEQ ID NO:15, como se determina por cristalografía de rayos X.

34. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 33, caracterizada porque cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano, la proteína de enlace al antígeno es de 5Å o menos de 30-32, 49, 50,

52, 53, 56, 91-94 y 96 residuos de SEQ ID NO:15.

35. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 humano, caracterizada porque cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano, la proteína de enlace al antígeno es de 5Å o menos de 26-28, 31, 53, 59, 102 y 104-108 residuos de SEQ ID NO:31, como se determina por cristalografía de rayos X.

36. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 35, caracterizada porque cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano, la proteína de enlace al antígeno es de 5Å o menos de 1, 26-28, 30-32, 52, 53, 59, 100, y 102-108 residuos de SEQ ID NO:31.

37. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 humano, caracterizada porque cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano, la proteína de enlace al antígeno es de 5Å o menos de 31-34, 51, 52, 55, 68 y 93 residuos de SEQ ID NO:1 como se determina por cristalografía de rayos X.

38. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 37, caracterizada porque cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano, la proteína de enlace al antígeno es de 5Å o menos de 29, 31-34, 51, 52, 55, 68, 93 y 100 residuos de SEQ ID NO:1.

39. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 1, 4, 7, 10, 19, 20, 26-31, 33, 35 o 37, caracterizada porque la proteína de enlace al antígeno es un anticuerpo.

40. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 39, caracterizada porque el

anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo multiespecífico, o un fragmento de anticuerpo del mismo.

5 41. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 40, caracterizada porque el fragmento de anticuerpo es un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fv, un diacuerpo, o una molécula de anticuerpo de cadena sencilla.

10 42. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 40, caracterizada porque la proteína de enlace al antígeno es un anticuerpo humano.

15 43. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 40, caracterizada porque la proteína de enlace al antígeno es un monoclonal anticuerpo.

44. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 39, caracterizada porque la proteína de enlace al antígeno es del tipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.

20 45. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 44, caracterizada porque la proteína de enlace al antígeno es del tipo IgG1 o IgG2.

46. Una molécula de ácido nucleico aislado caracterizada porque codifica una proteína de enlace al antígeno de conformidad con la reivindicación 1, 4, 7, 10, 19, 20 o 26.

47. Una molécula de ácido nucleico aislado de conformidad con la reivindicación 46, caracterizada porque al menos una región variable de cadena pesada se codifica por una molécula de

ácido nucleico aislado seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NOS:32, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59 y 152 y al menos una región variable de cadena ligera se codifica por una molécula de ácido nucleico aislado seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NOS:2, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, y 28.

48. Una molécula de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 47, caracterizada porque la molécula de ácido nucleico se liga operablemente a una secuencia de control.

10 49. Un vector caracterizado porque comprende una molécula de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 46.

50. Una célula hospedera caracterizada porque comprende la molécula de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 46.

15 51. Una célula hospedera caracterizada porque comprende el vector de conformidad con la reivindicación 49.

52. Un polinucleótido aislado suficiente para uso como una sonda de hibridación, cebador PCR o cebador procesado por secuencia que es un fragmento de la molécula de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 47 o su complemento.

53. Un método para hacer la proteína de enlace al antígeno de conformidad con la reivindicación 1, 4, 7, 10, 19, 20 o 26 caracterizado porque comprende la etapa de preparar la proteína de enlace al antígeno de una célula hospedera que secreta la proteína de enlace al antígeno.

54. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 humano, caracterizada porque el parche de cubierta formado cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano

000157

comprende un contacto de residuo dentro de los residuos 46-58, un contacto de residuo dentro de los residuos 112-120, y un contacto de residuo dentro de los residuos 155-163 de la subunidad IL-23p19 humano como se describe en SEQ ID NO:145, en donde el contacto de residuo tiene un valor de diferencia mayor que o igual a $10\text{\AA}^2$ como se determina por el área superficial expuesta al solvente.

55. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 54, caracterizada porque el parche de cubierta formado cuando la proteína de enlace al antígeno enlaza a IL-23 humano comprende además un contacto de residuo dentro de los residuos 121-125 de la subunidad IL-23p40 humano como se describe en SEQ ID NO:147, en donde el contacto de residuo tiene un valor de diferencia mayor que o igual a $10\text{\AA}^2$ como se determina por el área superficial expuesta al solvente.

56. Una proteína de enlace al antígeno aislada que enlaza IL-23 humano, caracterizada porque cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano la proteína de enlace al antígeno es de $5\text{\AA}$ o menos de un residuo dentro de los residuos 46-58, de un residuo dentro de los residuos 112-123, y de un residuo dentro de los residuos 155-163 de la subunidad IL-23p19 humano como se describe en SEQ ID NO:145, como se determina por cristalografía de rayos X.

57. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 56, caracterizada porque cuando la proteína de enlace al antígeno se enlaza a IL-23 humano la proteína de enlace al antígeno es de $5\text{\AA}$ o menos de un residuo dentro de los residuos 121-125, de la subunidad IL-23p40 humano

como se describe en SEQ ID NO:147, como se determina por cristalografía de rayos X.

58. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 1, 4, 7, 10, 19, 20, 26-31, 33, 35, 37, 54 o 56 caracterizada porque la proteína de enlace al antígeno tiene al menos una propiedad seleccionada del grupo que consiste de:

- a) reducir la actividad de IL-23 humano;
- b) reducir la producción de una citoquina proinflamatoria;
- c) enlazar a IL-23 humano con un K_D de $\leq 5 \times 10^{-8}$ M;
- d) tener una velocidad K_{off} de $\leq 5 \times 10^{-6}$ 1/s; y
- e) tener un IC_{50} de ≤ 400 pM.

59. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende al menos una proteína de enlace al antígeno de conformidad con la reivindicación 1, 4, 7, 10, 19, 20 o 26 y excipiente farmacéuticamente aceptable.

60. Una composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 59, caracterizada porque además comprende un grupo etiquetado o un grupo efector.

61. Una composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 60, caracterizada porque el grupo etiquetado se selecciona del grupo que consiste de etiquetas isotópicas, etiquetas magnéticas, porciones activas redox, pigmentos ópticos, grupos biotinilados y epítomos de polipéptidos predeterminados reconocidos por un reportero secundario.

62. Una composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 60, caracterizada porque el grupo efector es seleccionado del grupo que consiste de un radioisotopo, radionúclido, una toxina, un grupo terapéutico y un grupo quimioterapéutico.

63. Una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 60, caracterizada porque la proteína de enlace al antígeno se acopla a un grupo etiquetado.

000159

64. Un método para tratar o prevenir una afección asociada con IL-23 en un paciente, caracterizado porque comprende administrar a un paciente que necesita del mismo una cantidad efectiva de al menos una proteína de enlace al antígeno aislada de conformidad con la reivindicación 1, 4, 7, 10, 19, 20 o 26.

65. Un método de conformidad con la reivindicación 64, caracterizado porque la afección es seleccionada del grupo que consiste de un trastorno inflamatorio, una enfermedad reumática, un trastorno autoinmunitario, un trastorno oncológico y un trastorno gastrointestinal.

66. Un método de conformidad con la reivindicación 65, caracterizado porque la afección es seleccionada del grupo que consiste de esclerosis múltiple, artritis reumatoide, cáncer, psoriasis, enfermedad del intestino inflamatorio, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, lupus eritematoso sistémico, artritis psoriática, miocarditis autoinmunitaria; diabetes tipo 1 y espondilitis anquilosante.

67. Un método de conformidad con la reivindicación 64, caracterizado porque la proteína de enlace al antígeno aislada se administra sola o como una terapia de combinación.

68. Un método para reducir la actividad IL-23 en un paciente caracterizado porque comprende administrar una cantidad efectiva de al menos una proteína de enlace al antígeno de conformidad con la reivindicación 1, 4, 7, 10, 19, 20 o 26.

69. Un método para reducir la actividad IL-23 de conformidad con la reivindicación 68, caracterizado porque la actividad IL-23 es producción inducida de una citoquina proinflamatoria.

. 000160

000161

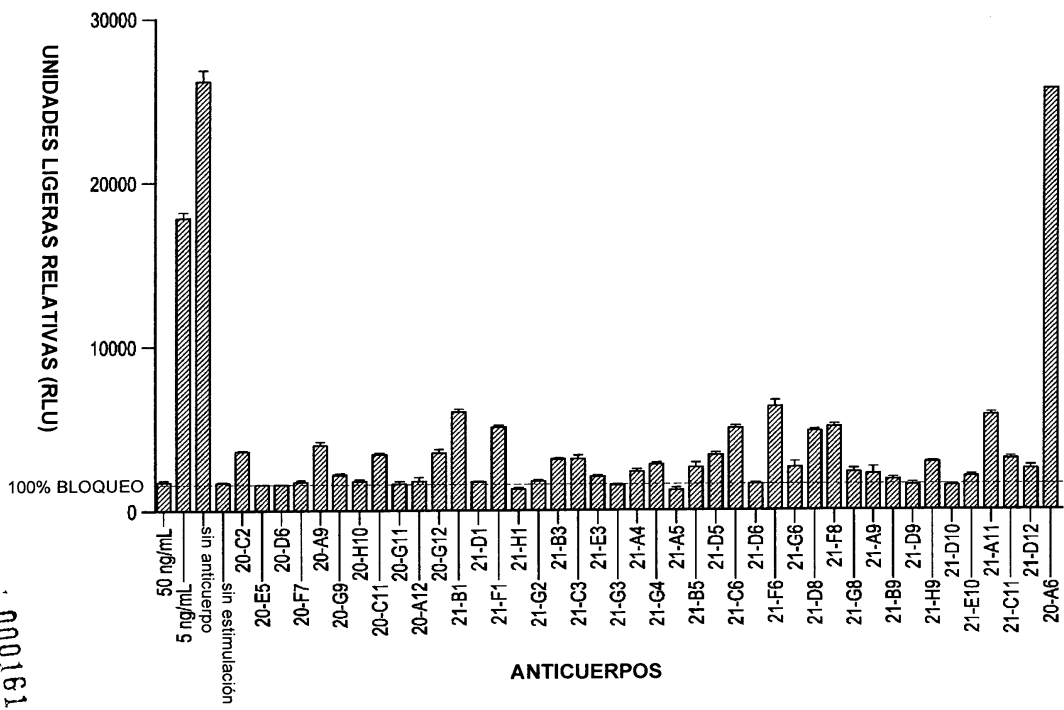


FIG. 1A

000162

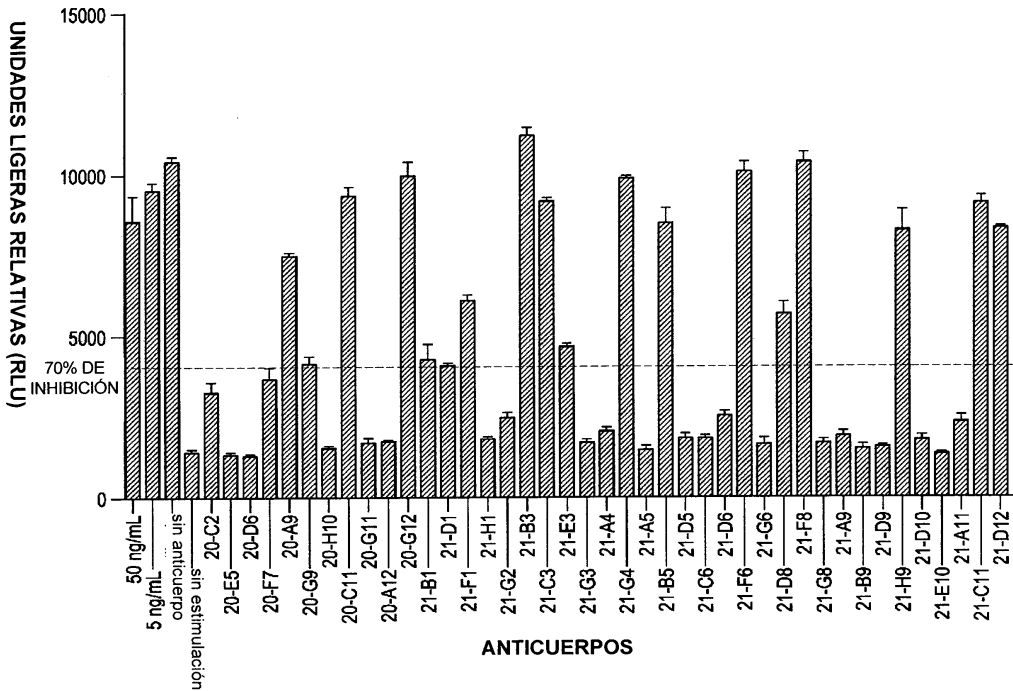


FIG. 1B

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Towne, Jennifer
Cheng, Janet
O'Neill, Jason
Zhang, Yu
Sun, Yu
Cerne, Heather
Piper, Derek
Ketchem, Randal

<120> PROTEÍNAS DE UNIÓN AL ANTÍGENO IL-23 HUMANAS

<130> A-1529-WO-PCT

<140> a asignarse

<141> 2010-10-26

<150> 61/381,287

<151> 2010-09-09

<150> 61/254,982

<151> 2009-10-26

<160> 155

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 2

<211> 333

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 2

cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60

tcctgcactg ggagcagctc caacaccggg gcagggttatg atgtacactg gtaccagcaa 120

000163

gttccaggaa cagcccccaa actcctcatt tatggtagcg gcaatcggcc ctcagggggtc 180
 cctgaccgat tctctgggtc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactggactc 240
 caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtggttgg 300
 gtgttcggcg gagggaccag gctgaccgtc ctg 333

<210> 3
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 3

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

<210> 4
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

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

000164

Thr Val Leu
115

<210> 5
<211> 345
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 5
caggctgtgc tgactcagcc gtcttcacctc tctgcatctc ctggagcatc agccagtctc 60
acctgcacct tacgcagtgg catcaatggt ggtacctaca ggatatactg gtaccagcag 120
aagccaggga gtccctcccca gtatctcctg aggtacaaat cagactcaga taagcagcag 180
ggctctggag tccccagccg cttctctgga tccaaagatg cttcggccaa tgcagggatt 240
ttactcatct ctgggctcca gtctgaggat gaggctgact attactgtat gatttggcac 300
agcagcgctt cgggtattcgg cggagggacc aagctgaccg tccta 345

<210> 6
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6

Glu Asn Thr Val Thr Ile Tyr Tyr Asn Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 7
<211> 116
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 7

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

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

Val Asp Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Gly Pro Arg Phe Val Met
35 40 45

Arg Val Gly Thr Gly Gly Ile Val Gly Ser Lys Gly Asp Gly Ile Pro
50 55 60

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

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

His Gly Ser Gly Ser Asn Phe Val Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys
100 105 110

Val Thr Val Leu
115

000165

<210> 8
<211> 348

<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 8
cagcctgtgc tgactcagcc accttctgca tcagcctccc tgggagcctc ggtcacactc 60
acctgcaccc tgaacagcgg ctacagtgat tataaagtgg actggtacca gcagagacca 120
gggaagggcc cccggtttgt gatgcgagtg ggcactggtg ggattgtggg atccaagggg 180
gatggcatcc ctgatcgctt ctcagtcttg ggctcaggcc tgaatcggtg cctgaccatc 240
aagaatatcc aggaagagga tgagagtgc taccactgtg gggcagacca tggcagtggg 300
agcaacttcg tgtatgtctt cggaactggg accaaggtca ccgtccta 348

<210> 9
<211> 116
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 9
Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Ala Ser Leu Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Thr Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Lys
20 25 30
Val Asp Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Gly Pro Arg Phe Val Met
35 40 45
Arg Val Gly Thr Gly Gly Ile Val Gly Ser Lys Gly Glu Gly Ile Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Val Leu Gly Ser Gly Leu Asn Arg Tyr Leu Thr Ile
65 70 75 80
Lys Asn Ile Gln Glu Glu Asp Glu Ser Asp Tyr His Cys Gly Ala Asp
85 90 95
His Gly Ser Gly Asn Asn Phe Val Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys
100 105 110
Val Thr Val Leu
115

<210> 10
<211> 348
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 10
cagcctgtgc tgactcagcc accttctgca tcagcctccc tgggagcctc ggtcacactc 60
acctgcaccc tgagcagcgg ctacagtgat tataaagtgg actggtacca gcagagacca 120
gggaagggcc cccggtttgt gatgcgagtg ggcactggtg ggattgtggg atccaagggg 180
gaaggcatcc ctgatcgctt ctcagtcttg ggctcaggcc tgaatcggtg cctgaccatc 240
aagaacatcc aggaagagga tgagagtgc taccactgtg gggcagacca tggcagtggg 300
aacaacttcg tgtatgtctt cggaactggg accaaggtca ccgtccta 348

000166

<210> 11
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 11

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

<210> 12
 <211> 348
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 12
 cagcctgagt tgactcagcc accttctgca tcagcctccc tgggagcctc ggtcacactc 60
 acctgcacccc tgagcagcgg ctacagtgat tataaagtgg actggtacca gctgagacca 120
 gggaaggggcc cccggtttgt gatgcgagtg ggcaactggtg ggactgttgg atccaagggg 180
 gaaggcatcc ctgatcgctt ctcaagtcttg ggctcaggcc tgaatcggtc cctgaccatc 240
 aagaacatcc aggaagagga tgagagtgac taccactgtg gggcagacca tggcagtggg 300
 agcaacttcg tgtatgtctt cggaactggg accaaggtca ccgtccta 348

<210> 13
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 13

Asp Ile Gln Leu Thr Pro Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ala Gly Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

000167

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 Ala Asp Ser Phe Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 14
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 14
 gacatccagt tgaccccgctc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgctc gggcgagtc ggggtattgcc ggctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctgacagtt tccctccac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 15
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 15

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Val Ile Ser Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Ser Leu 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 Val 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 Ala Asn Ser Phe Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Phe Lys
 100 105

<210> 16
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

000168

<400> 16
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctagectcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtgtatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac tttcggcct 300
gggaccaaag tggatttcaa a 321

<210> 17
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 17

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ser Ser Ser Trp
20 25 30
Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Ala Asn Ser Phe Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 18
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 18
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggaagtagc agctgggttg cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc caaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac tttcggcct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 19
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

000169

<400> 19

Asp Ser Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val 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
 Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Asn Leu 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 Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105

<210> 20
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 20
 gagagccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcct ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcaacttgtc gggcgagtca ggggtattagc agctgggtttg cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggcaagccc ctaacctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac tttcggcct 300
 gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 21
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 21

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Gly Gln Val Ile Ser Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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
 Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Thr Ser Phe Pro Leu
 85 90 95

000170

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

<210> 22
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 22

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcggtca ggttattagc agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatcg 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaccagtt ttcccctcac ttccggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 23
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 23

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Ala Asn Ser Phe Pro Phe
85 90 95

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

<210> 24
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 24

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggtttttagc ggttggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

000171

aggttcagtg gcagtggtatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag gctaacagtt tcccattcac tttcggcct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 25
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 25

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

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

Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu 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

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

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

<210> 26
<211> 321
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 26

gacatccagt tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggtttg cctgggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggtatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gcagattttg caacttactt ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac tttcggcct 300

gggaccaaag tggatgtcaa a 321

<210> 27
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 27

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

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

000172

Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu 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 Ala Asn Ser Phe Pro Phe
 85 90 95

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

<210> 28

<211> 321

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 28

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtagtagc agctggtttg cctggatatca acagaaacca 120

gggaaagccc caaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac tttcggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 29

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

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 Arg Asn Asp
 20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg 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 Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

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

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

<210> 30

<211> 108

<212> PRT

000173

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (2)..(2)

<223> Xaa puede ser Ile o Ser

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (4)..(4)

<223> Xaa puede ser Met o Leu

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (29)..(29)

<223> Xaa puede ser Gly o Val

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (30)..(30)

<223> Xaa puede ser Ser, Phe o Ile

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (32)..(32)

<223> Xaa puede ser Ser o Gly

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (34)..(34)

<223> Xaa puede ser Phe o Leu

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (43)..(43)

<223> Xaa puede ser Lys o Gln

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (46)..(46)

<223> Xaa puede ser Lys, Asn o Ser

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (67)..(67)

<223> Xaa puede ser Gly o Val

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (71)..(71)

<223> Xaa puede ser Asp o Glu

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (82)..(82)

<223> Xaa puede ser Glu o Ala

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (88)..(88)

<223> Xaa puede ser Tyr o Phe

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

000174

<222> (107)..(107)

<223> Xaa puede ser Ile, Val o Phe

<400> 30

Asp Xaa Gln Xaa Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

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

Gly Ser Xaa Ser Gly Thr Xaa Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

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

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

<210> 31

<211> 124

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Arg Gly Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ala Phe Asp
100 105 110

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

<210> 32

<211> 372

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 32

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc

60

000175

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa tgaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataa acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatcgg 300
gggtatacca gtagctggta cctgatgct tttgatatct ggggccaagg gacaatggtc 360
accgtctctt ca 372

<210> 33
<211> 124
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33

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

<210> 34
<211> 121
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34

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

000176

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 35
<211> 363
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 35

cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatttg atggaagtct taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa caccctgtat 240
ctgcaaataa acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaacgg 300
actactttta gtggggagcta ctttgactac tgggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 36
<211> 121
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

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

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

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

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

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

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 37
<211> 363
<212> ADN

000177

<213> Homo sapiens

<400> 37

```

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatgccca tgcactgggt cgcagggt      120
ccaggcaagg ggctggagtg gttgtcagtt atatcacatg atggaagtat taaatactat      180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240
ctgcaaataga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaacgg      300
actactctaa gtgggagcta ctttgactac tggggccagg gaaccctggg caccgtctcc      360
tca                                          363

```

<210> 38

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

```

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

```

<210> 39

<211> 375

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 39

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ctggtacagc ctgggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatagta tgaactgggt cgcagggt      120
ccagggaagg ggctggagtg ggtttcgtac attagtagta ggagtagtac catatacatc      180
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctactgtat      240
ctgcaaataga acagcctgag agacgaagac acggctgtgt attactgtgc gagacggata      300

```

000178

gcagcagctg gtgggttcca ctactactac gctttggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cctca 375

<210> 40
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 40
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Arg Tyr His 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 Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Ile Ala Ala Ala Gly Pro Trp Gly Tyr Tyr Tyr Ala Met
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 41
 <211> 375
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 41
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacaac ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctatagca tgaactgggt ccgccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagtagca gtagtagtac cagataccac 180
 gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctactgtat 240
 ctgcaaataga acagcctgag agacgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacgtata 300
 gcagcagctg gtccgtgggg ctactactac gctatggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cctca 375

<210> 42
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 42
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

000179

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

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

<400> 43

gagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc	60
tcctgtgtag tctctggatt caccttcagt agtttttagca tgaactgggt ccgccaggct	120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagtagtc gtagtagtac catatactac	180
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctcaactgtat	240
ctgcaaataga acagcctgag agacgaggac acggctgtgt attattgtgc gagacgtata	300
gcagcagctg gtccgtgggg ctactactac gctatggacg tctggggcca agggaccacg	360
gtcaccgtct cctca	375

<210> 44
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 44

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu	
1	15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Thr Tyr	
20	30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile	
35	45
Gly Leu Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys	
50	60
Ser Arg Val Thr Met Ser Leu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu	
65	80

000180

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

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

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 45
<211> 354
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 45

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt acttactact ggagctggat ccggcagccc 120
gccgggaagg gactggagtg gattgggctt atctatacca gtgggagcac caactacaac 180
ccctccctca agagtcgagt caccatgtca ttagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
aggctgacct ctgtgaccgc cgcggacacg gccgtttatt actgtgcgag agatcgtggg 300
tactactacg gtgtggacgt ctggggccag gggaccacgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 46
<211> 120
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 46

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

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

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

Trp Ile Gly His Ile His Tyr Ser Gly Asn 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 Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Lys Asn Arg Gly Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 47
<211> 360
<212> ADN
<213> Homo sapiens

000181

<400> 47

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtggtt actactggag ctggatccgc      120
cagcaccagc ggaagggcct ggagtggatt gggcacatcc attacagtgg gaacacctac      180
tacaaccgct ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaatcagttc      240
tccttgaaac tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgaaaaat      300
cgcggggttct actacggtat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca      360

```

<210> 48

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

```

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

```

<210> 49

<211> 360

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 49

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcaac agtggtggtt actactggag ctggatccgc      120
cagcaccagc ggaagggcct ggagtggatt gggcacatct attacagtgg gagctcctac      180
tacaaccgct ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctca gaaccagttc      240
tccttgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagat      300
cgggggcact actacggtat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca      360

```

<210> 50

000182

<211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 50

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
 20 25 30
 Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 Trp Ile Gly Tyr 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 Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Arg Gly His Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 51
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 51

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctgggtg ctccatcagt agtgggtggtt actactggag ctggatccgc 120
 cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt gggtacattt attacagtgg gagcacctac 180
 tacaaccctg cctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
 tccctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagat 300
 cggggccact actatggaat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

<210> 52
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 52

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Arg Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Phe Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

000183

35 40 45
 Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Ile Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
 85 90 95
 Arg Asp Arg Gly Ser Tyr Tyr Gly Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 53
 <211> 354
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 53
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccaaga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtga ctccatcagt agttacttct ggagctggat ccggcagccc 120
 ccagggaagg gactggagtg gcttgggtat atctattaca gtgggagcac caactacaac 180
 ccctccctca agagtcgagt caccatatca atagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
 aagctgagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtacgag agatcggggg 300
 agctactacg gatctgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 54
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 54
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
 20 25 30
 Gly Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
 65 70 75 80
 Ser Leu Ser Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asn Arg Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

000184

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 55
<211> 360
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 55

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtgggtt actactggac ctggatccgc 120
cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gaacacctac 180
tacaaccgct cctcaagag tcgaattacc atatcagtgg acacgtctaa gaaccagttc 240
tccctgagcc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagaaat 300
cgcggttact actacggtat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

<210> 56
<211> 120
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 56

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

<210> 57
<211> 360
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 57

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtgggtt actactggag ctggatccgc 120
cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gagcacctac 180

000185

tacaacccgt ccctcaagag tcgagttacc atgtcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
 tccctgaaac tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgaaaaat 300
 cgcgggttct actacggtat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

<210> 58
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 58

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ser 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 Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Asp Arg Gly His Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 59
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 59

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcaat agtggtggtt actactggag ctggatccgc 120

cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggtacatct attacagtgg gagcagctac 180

tacaacccgt ccctcaagag tcgagttacc atatcagttg acacgtctaa gaaccagttc 240

tccctgaagc tgagttctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagat 300

cgggggcact actacggtat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

<210> 60
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

000186

<400> 60

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

<210> 61

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (3)..(3)

<223> Xaa puede ser Val o Glu

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (25)..(25)

<223> Xaa puede ser Asn o Ser

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (38)..(38)

<223> Xaa puede ser Gln o Leu

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (55)..(55)

<223> Xaa puede ser Ile o Thr

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (61)..(61)

<223> Xaa puede ser Asp o Glu

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (77)..(77)

<223> Xaa puede ser Tyr o Ser

<220>

000187

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (101)..(101)

<223> Xaa puede ser Ser o Asn

<400> 61

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

Ser Val Thr Leu Thr Cys Thr Leu Xaa Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Lys
20 25 30

Val Asp Trp Tyr Gln Xaa Arg Pro Gly Lys Gly Pro Arg Phe Val Met
35 40 45

Arg Val Gly Thr Gly Gly Xaa Val Gly Ser Lys Gly Xaa Gly Ile Pro
50 55 60

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

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

His Gly Ser Gly Xaa Asn Phe Val Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys
100 105 110

Val Thr Val Leu
115

<210> 62

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

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

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

Gly Ser Gly Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 64

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Trp Val
1 5 10

<210> 65

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

000188

<400> 65

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

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

Gly Ser Asn Asn Arg Pro Ser
 1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

Met Ile Trp His Ser Ser Ala Ser Val
 1 5

<210> 68

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

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

<210> 69

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Lys Gln Gln Gly Ser
 1 5 10

<210> 70

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

Gly Ala Asp His Gly Ser Gly Ser Asn Phe Val Tyr Val
 1 5 10

<210> 71

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

000189

<400> 71

Thr Leu Asn Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Lys Val
 1 5 10

<210> 72

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Val Gly Thr Gly Gly Ile Val Gly Ser Lys Gly Asp
 1 5 10

<210> 73

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

Gly Ala Asp His Gly Ser Gly Asn Asn Phe Val Tyr Val
 1 5 10

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

Thr Leu Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Lys Val
 1 5 10

<210> 75

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

Val Gly Thr Gly Gly Ile Val Gly Ser Lys Gly Glu
 1 5 10

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr
 1 5

<210> 77

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 77

Arg Ala Ser Gln Gly Phe Ser Gly Trp Leu Ala

000190

1 5 10

<210> 78
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 78

Val Gly Thr Gly Gly Thr Val Gly Ser Lys Gly Glu
 1 5 10

<210> 79
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 79

Gln Gln Ala Thr Ser Phe Pro Leu Thr
 1 5

<210> 80
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 80

Arg Ala Ser Gln Val Ile Ser Ser Trp Leu Ala
 1 5 10

<210> 81
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 81

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
 1 5

<210> 82
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 82

Gln Gln Ala Asp Ser Phe Pro Pro Thr
 1 5

<210> 83
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 83

Arg Ala Ser Gln Val Ile Ser Ser Trp Phe Ala
 1 5 10

<210> 84

000191

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 84

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Pro Thr
 1 5

<210> 85
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 85

Arg Ala Ser Gln Gly Ser Ser Ser Trp Phe Ala
 1 5 10

<210> 86
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 86

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Phe Ala
 1 5 10

<210> 87
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 87

Arg Ala Gly Gln Val Ile Ser Ser Trp Leu Ala
 1 5 10

<210> 88
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 88

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

<210> 89
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 89

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

<210> 90
 <211> 17
 <212> PRT

000192

<213> Homo sapiens

<400> 90

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

Gly

<210> 91

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 92

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

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

Gly

<210> 93

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

Asp Arg Gly Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 94

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Ser Tyr Ala Met His
1 5

<210> 95

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

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

000193

Gly

<210> 96
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 96

Asp Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5 10 15

<210> 97
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 97

Thr Tyr Ser Met Asn
 1 5

<210> 98
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 98
 Val Ile Ser Phe Asp Gly Ser Leu Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 99
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 99

Glu Arg Thr Thr Leu Ser Gly Ser Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 100
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 100

Ser Tyr Ser Met Asn
 1 5

<210> 101
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 101

000194

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

Gly

<210> 102
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 102

Arg Ile Ala Ala Ala Gly Gly Phe His Tyr Tyr Tyr Ala Leu Asp Val
 1 5 10 15

<210> 103
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 103

Ser Phe Ser Met Asn
 1 5

<210> 104
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 104

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

Gly

<210> 105
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 105

Arg Ile Ala Ala Ala Gly Pro Trp Gly Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Val
 1 5 10 15

<210> 106
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 106

Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Thr
 1 5

<210> 107

000195

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

<400> 107

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

Gly

<210> 108
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 108

Asn Arg Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

<210> 109
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 109

Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser
 1 5

<210> 110
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 110

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

Gly

<210> 111
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 111

Asn Arg Gly Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

<210> 112
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 112

Ser Tyr Phe Trp Ser
 1 5

000196

<210> 113
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 113

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

<210> 114
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 114

Asp Arg Gly His Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

<210> 115
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 115

Thr Tyr Tyr Trp Ser
 1 5

<210> 116
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 116

His Ile His Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 117
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 117

Asp Arg Gly Ser Tyr Tyr Gly Ser Asp Tyr
 1 5 10

<210> 118
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 118

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

000197

<210> 119
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 119

Asp Arg Gly Tyr Tyr Tyr Gly Val Asp Val
 1 5 10

<210> 120
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 120

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ser Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 121
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 121

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

<210> 122
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 122

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

<210> 123
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Secuencia de Consenso

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa puede ser Gly o Val

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa puede ser Ile, Phe o Ser

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (8)..(8)

000198

<223> Xaa puede ser Ser o Gly

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (10)..(10)

<223> Xaa puede ser Phe o Leu.

<400> 123

Arg	Ala	Ser	Gln	Xaa	Xaa	Ser	Xaa	Trp	Xaa	Ala
1				5					10	

<210> 124

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (3)..(3)

<223> Xaa puede ser Asn o Ser

<400> 124

Thr	Leu	Xaa	Ser	Gly	Tyr	Ser	Asp	Tyr	Lys	Val	Asp
1				5					10		

<210> 125

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (7)..(7)

<223> Xaa puede ser Ile o Thr

<400> 125

Thr	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Xaa	Gly	Ala	Gly	Tyr	Asp	Val	His
1					5					10			

<210> 126

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (6)..(6)

<223> Xaa puede ser Ile o Thr

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

000199

<222> (12)..(12)

<223> Xaa puede ser Asp o Glu

<400> 126

Val	Gly	Thr	Gly	Gly	Xaa	Val	Gly	Ser	Lys	Gly	Xaa
1				5					10		

<210> 127

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (3)..(3)

<223> Xaa puede ser Asn o Gly

<400> 127

Gly	Ser	Xaa	Asn	Arg	Pro	Ser
1			5			

<210> 128

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (8)..(8)

<223> Xaa puede ser Ser o Asn

<400> 128

Gly	Ala	Asp	His	Gly	Ser	Gly	Xaa	Asn	Phe	Val	Tyr	Val
1				5					10			

<210> 129

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (7)..(7)

<223> Xaa puede ser Ser o Thr

<400> 129

Ser	Gly	Gly	Tyr	Tyr	Trp	Xaa
1				5		

000200

<210> 130
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Consenso

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa puede ser Gly o Ala

<400> 130

Ser Tyr Xaa Met His
 1 5

<210> 131
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Consenso

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser Ser o Thr

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser Ser o Thr

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa puede ser Tyr o Phe

<400> 131

Xaa Xaa Ser Met Asn
 1 5

<210> 132
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Consenso

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser Tyr o His

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (3)..(3)

000201

<223> Xaa puede ser Thr o His

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (7)..(7)

<223> Xaa puede ser Ser o Asn

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (8)..(8)

<223> Xaa puede ser Thr o Ser

<400> 132

Xaa	Ile	Xaa	Tyr	Ser	Gly	Xaa	Xaa	Tyr	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser
1				5					10					15	

<210> 133

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (4)..(4)

<223> Xaa puede ser Phe o His

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (8)..(8)

<223> Xaa puede ser Leu o Thr

<400> 133

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

Gly

<210> 134

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (5)..(5)

<223> Xaa puede ser Arg o Ser

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (9)..(9)

<223> Xaa puede ser Ile o Arg

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (11)..(11)

000202

<223> Xaa puede ser Ile, His o Try

<400> 134

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

Gly

<210> 135

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (9)..(9)

<223> Xaa puede ser Lys o Glu

<400> 135

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

Gly

<210> 136

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (1)..(1)

<223> Xaa puede ser Asn o Asp

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (4)..(4)

<223> Xaa puede ser His, Tyr o Phe

<400> 136

Xaa	Arg	Gly	Xaa	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val
1				5				10	

<210> 137

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

000203

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa puede ser Gly o Phe

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa puede ser Phe o Trp

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (9)..(9)
 <223> Xaa puede ser His o Gly

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa puede ser Leu and Met

<400> 137

Arg	Ile	Ala	Ala	Ala	Gly	Xaa	Xaa	Xaa	Tyr	Tyr	Tyr	Ala	Xaa	Asp	Val
1				5					10					15	

<210> 138
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Consenso

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa puede ser Ser o Thr

<400> 138

Asp	Arg	Gly	Tyr	Xaa	Ser	Ser	Trp	Tyr	Pro	Asp	Ala	Phe	Asp	Ile
1				5					10					15

<210> 139
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Consenso

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (29)..(29)
 <223> Xaa puede ser Ile o Thr

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (41)..(41)
 <223> Xaa puede ser Val o Leu

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (54)..(54)

000204

<223> Xaa puede ser Gly o Asn

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (107)..(107)

<223> Xaa puede ser Arg o Lys

<400> 139

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

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

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Xaa Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

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

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

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

Leu Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Xaa Arg Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 140

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (30)..(30)

<223> Xaa puede ser And o Ser

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (37)..(37)

<223> Xaa puede ser Ser o Thr

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (52)..(52)

<223> Xaa puede ser Tyr o His

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (54)..(54)

<223> Xaa puede ser Tyr o His

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (58)..(58)

<223> Xaa puede ser Ser o Asn

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (59)..(59)

000205

<223> Xaa puede ser Ser o Asn

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (69)..(69)

<223> Xaa puede ser Ser o Thr

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (71)..(71)

<223> Xaa puede ser Val o Ile

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (77)..(77)

<223> Xaa puede ser Ile o Met

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (83)..(83)

<223> Xaa puede ser Lys o Gln

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (99)..(99)

<223> Xaa puede ser Arg o Lys

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (100)..(100)

<223> Xaa puede ser Asp o Asn

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (103)..(103)

<223> Xaa puede ser His, Phe o Try

<400> 140

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Xaa Ser Gly
20 25 30

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

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

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

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

Cys Ala Xaa Xaa Arg Gly Xaa Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 141

<211> 125

<212> PRT

000206

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (23)..(23)

<223> Xaa puede ser Ala o Val

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (24)..(24)

<223> Xaa puede ser Ala o Val

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (31)..(31)

<223> Xaa puede ser Thr o Ser

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (32)..(32)

<223> Xaa puede ser Tyr o Phe

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (54)..(54)

<223> Xaa puede ser Ser o Arg

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (58)..(58)

<223> Xaa puede ser Arg o Ile

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (60)..(60)

<223> Xaa puede ser His, Try o Ile

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (105)..(105)

<223> Xaa puede ser Pro o Gly

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (106)..(106)

<223> Xaa puede ser Trp o Phe

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (107)..(107)

<223> Xaa puede ser Gly o His

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS

<222> (112)..(112)

<223> Xaa puede ser Met o Leu

<400> 141

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Xaa Xaa Ser Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Xaa

000207

	20		25		30
Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	35	40	45		
Ser Tyr Ile Ser Ser Xaa Ser Ser Thr Xaa Tyr Xaa 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 Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	85	90	95		
Ala Arg Arg Ile Ala Ala Ala Gly Xaa Xaa Xaa Tyr Tyr Tyr Ala Xaa	100	105	110		
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	115	120	125		

<210> 142
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia de Consenso

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (33)..(33)
 <223> Xaa puede ser Gly o Ala

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (48)..(48)
 <223> Xaa puede ser Val o Leu

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (49)..(49)
 <223> Xaa puede ser Ala o Ser

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (53)..(53)
 <223> Xaa puede ser Phe o His

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
 <222> (57)..(57)
 <223> Xaa puede ser Leu o Ile

<400> 142

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

000208

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

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 143
<211> 124
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de Consenso

<220>
<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
<222> (58)..(58)
<223> Xaa puede ser Glu o Lys

<220>
<221> CARACTERÍSTICAS_DIVERSAS
<222> (103)..(103)
<223> Xaa puede ser Thr o Ser

<400> 143

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Arg Gly Tyr Xaa Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ala Phe Asp
100 105 110

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

<210> 144
<211> 1026
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 144

000209

```

aactcgggtga acaactgagg gaaccaaacc agagacgcgc tgaacagaga gaatcaggct      60
caaagcaagt ggaagtgggc agagattcca ccaggactgg tgcaaggcgc agagccagcc      120
agatttgaga agaaggcaaa aagatgctgg ggagcagagc tgtaatgctg ctgttgctgc      180
tgccctggac agctcagggc agagctgtgc ctgggggcag cagccctgcc tggactcagt      240
gccagcagct ttcacagaag ctctgcacac tggcctggag tgcacatcca ctagtgggac      300
acatggatct aagagaagag ggagatgaag agactacaaa tgatgttccc catatccagt      360
gtggagatgg ctgtgacccc caaggactca gggacaacag tcagttctgc ttgcaaagga      420
tccaccaggg tctgattttt tatgagaagc tgctaggatc ggatattttc acaggggagc      480
cttctctgct ccctgatagc cctgtggggc agcttcatgc ctccctactg ggctcagcc      540
aactcctgca gcctgagggg caccactggg agactcagca gattccaagc ctcagtccca      600
gccagccatg gcagcgtctc cttctccgct tcaaaatcct tcgcagcctc caggcctttg      660
tggtctgtagc cgcccgggtc tttgcccatt gagcagcaac cctgagtccc taaaggcagc      720
agctcaagga tggcactcag atctccatgg ccagcaagg ccaagataaa tctaccaccc      780
caggcacctg tgagccaaca ggttaattag tccattaatt ttagtgggac ctgcatatgt      840
tgaaaattac caatactgac tgacatgtga tgctgacctg tgataagggt gagtatttat      900
tagatgggaa gggaaatttg gggattatct atcctcctgg ggacagtttg gggaggatta      960
tttattgtat ttatattgaa ttatgtactt ttttcaataa agtcttattt ttgtggctaa     1020
aaaaaa                                           1026

```

```

<210> 145
<211> 189
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 145
Met Leu Gly Ser Arg Ala Val Met Leu Leu Leu Leu Pro Trp Thr
1           5           10           15

Ala Gln Gly Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln
          20           25           30

Cys Gln Gln Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His
          35           40           45

Pro Leu Val Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr
          50           55           60

Thr Asn Asp Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln
65           70           75           80

Gly Leu Arg Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly
          85           90           95

Leu Ile Phe Tyr Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu
          100          105          110

Pro Ser Leu Leu Pro Asp Ser Pro Val Gly Gln Leu His Ala Ser Leu
          115          120          125

```

000210

Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr
130 135 140

Gln Gln Ile Pro Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu
145 150 155 160

Leu Arg Phe Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala
165 170 175

Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro
180 185

<210> 146

<211> 1399

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 146

ctgttttcagg gccattggac tctccgtcct gccagagca agatgtgtca ccagcagttg	60
gtcatctctt gggtttccct gggttttctg gcatctcccc tcgtggccat atgggaactg	120
aagaaagatg tttatgtcgt agaattggat tggatatccg atgcccctgg agaaatggtg	180
gtcctcacct gtgacacccc tgaagaagat ggtatcacct ggaccttga ccagagcagt	240
gaggtcttag gctctggcaa aacctgacc atccaagtca aagagtttgg agatgctggc	300
cagtacacct gtcacaaagg aggcgaggtt ctaagccatt cgctcctgct gcttcacaaa	360
aaggaagatg gaatttggtc cactgatatt ttaaaggacc agaaagaacc caaaaataag	420
acctttctaa gatgcgaggc caagaattat tctggacgtt tcacctgctg gtggctgacg	480
acaatcagta ctgatttgac attcagtgtc aaaagcagca gaggctcttc tgacccccaa	540
ggggtgacgt gcggagctgc tacactctct gcagagagag tcagagggga caacaaggag	600
tatgagtact cagtggagtg ccaggaggac agtgcctgcc cagctgctga ggagagtctg	660
ccattgagg tcatggtgga tgccgttcac aagctcaagt atgaaaacta caccagcagc	720
ttcttcatca gggacatcat caaacctgac ccaccaaga acttgacgt gaagccatta	780
aagaattctc ggcaggtgga ggtcagctgg gagtaccctg acacctggag tactccacat	840
tcctacttct cctgacatt ctgcgttcag gtccagggca agagcaagag agaaaagaaa	900
gatagagtct tcacggacaa gacctcagcc acggtcatct gccgcaaaaa tgccagcatt	960
agcgtgcggg ccagggaccg ctactatagc tcatcttga gcgaatgggc atctgtgccc	1020
tgcagttagg ttctgatcca ggatgaaaat ttggaggaaa agtggagat attaagcaaa	1080
atgttttaaag acacaacgga atagacccaa aaagataatt tctatctgat ttgctttaaa	1140
acgttttttt aggatcacia tgatatcttt gctgtatttg tatagttaga tgctaaatgc	1200
tcattgaaac aatcagctaa tttatgtata gattttccag ctctcaagtt gccatgggcc	1260
ttcatgctat ttaaataatt aagtaattta tgtatttatt agtatattac tgttatttaa	1320
cgtttgtctg ccaggatgta tggaatgttt catactctta tgacctgatc catcaggatc	1380
agtcocctatt atgcaaaaat	1399

000211

<210> 147
 <211> 328
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 147

Met	Cys	His	Gln	Gln	Leu	Val	Ile	Ser	Trp	Phe	Ser	Leu	Val	Phe	Leu
1				5					10					15	
Ala	Ser	Pro	Leu	Val	Ala	Ile	Trp	Glu	Leu	Lys	Lys	Asp	Val	Tyr	Val
			20					25					30		
Val	Glu	Leu	Asp	Trp	Tyr	Pro	Asp	Ala	Pro	Gly	Glu	Met	Val	Val	Leu
		35					40					45			
Thr	Cys	Asp	Thr	Pro	Glu	Glu	Asp	Gly	Ile	Thr	Trp	Thr	Leu	Asp	Gln
	50					55					60				
Ser	Ser	Glu	Val	Leu	Gly	Ser	Gly	Lys	Thr	Leu	Thr	Ile	Gln	Val	Lys
65					70					75					80
Glu	Phe	Gly	Asp	Ala	Gly	Gln	Tyr	Thr	Cys	His	Lys	Gly	Gly	Glu	Val
				85					90					95	
Leu	Ser	His	Ser	Leu	Leu	Leu	Leu	His	Lys	Lys	Glu	Asp	Gly	Ile	Trp
			100					105						110	
Ser	Thr	Asp	Ile	Leu	Lys	Asp	Gln	Lys	Glu	Pro	Lys	Asn	Lys	Thr	Phe
		115					120					125			
Leu	Arg	Cys	Glu	Ala	Lys	Asn	Tyr	Ser	Gly	Arg	Phe	Thr	Cys	Trp	Trp
	130					135					140				
Leu	Thr	Thr	Ile	Ser	Thr	Asp	Leu	Thr	Phe	Ser	Val	Lys	Ser	Ser	Arg
145					150					155					160
Gly	Ser	Ser	Asp	Pro	Gln	Gly	Val	Thr	Cys	Gly	Ala	Ala	Thr	Leu	Ser
				165					170					175	
Ala	Glu	Arg	Val	Arg	Gly	Asp	Asn	Lys	Glu	Tyr	Glu	Tyr	Ser	Val	Glu
			180					185					190		
Cys	Gln	Glu	Asp	Ser	Ala	Cys	Pro	Ala	Ala	Glu	Glu	Ser	Leu	Pro	Ile
		195					200					205			
Glu	Val	Met	Val	Asp	Ala	Val	His	Lys	Leu	Lys	Tyr	Glu	Asn	Tyr	Thr
	210					215					220				
Ser	Ser	Phe	Phe	Ile	Arg	Asp	Ile	Ile	Lys	Pro	Asp	Pro	Pro	Lys	Asn
225					230					235					240
Leu	Gln	Leu	Lys	Pro	Leu	Lys	Asn	Ser	Arg	Gln	Val	Glu	Val	Ser	Trp
				245					250					255	
Glu	Tyr	Pro	Asp	Thr	Trp	Ser	Thr	Pro	His	Ser	Tyr	Phe	Ser	Leu	Thr
			260					265					270		
Phe	Cys	Val	Gln	Val	Gln	Gly	Lys	Ser	Lys	Arg	Glu	Lys	Lys	Asp	Arg
		275					280					285			
Val	Phe	Thr	Asp	Lys	Thr	Ser	Ala	Thr	Val	Ile	Cys	Arg	Lys	Asn	Ala
	290					295					300				
Ser	Ile	Ser	Val	Arg	Ala	Gln	Asp	Arg	Tyr	Tyr	Ser	Ser	Ser	Trp	Ser

000212

305

310

315

320

Glu Trp Ala Ser Val Pro Cys Ser
325

<210> 148
<211> 2826
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 148

acaaggggtgg cagcctggct ctgaagtgga attatgtgct tcaaacaggt tgaaagaggg	60
aaacagtctt ttctgtcttc cagacatgaa tcaggtcact attcaatggg atgcagtaat	120
agccctttac atactcttca gctgggtgtca tggaggaatt acaaatataa actgctctgg	180
ccacatctgg gtagaaccag ccacaatttt taagatgggt atgaatatct ctatatattg	240
ccaagcagca attaagaact gccaaccaag gaaacttcat ttttataaaa atggcatcaa	300
agaaagattt caaatcacaa ggattaataa aacaacagct cggctttggg ataaaaactt	360
tctggaacca catgcttcta tgtactgcac tgctgaatgt cccaaacatt ttcaagagac	420
actgatatgt ggaaaagaca tttcttctgg atatccgcca gatattcctg atgaagtaac	480
ctgtgtcatt tatgaatatt caggcaacat gacttgcacc tggaatgctg ggaagctcac	540
ctacatagac acaaaatacg tggtagatgt gaagagttta gagacagaag aagagcaaca	600
gtatctcacc tcaagctata ttaacatctc cactgattca ttacaagggtg gcaagaagta	660
cttggtttgg gtccaagcag caaacgcact aggcattggaa gagtcaaaac aactgcaa	720
tcacctggat gatatagtga taccttctgc agccgtcatt tccagggctg agactataaa	780
tgctacagtg cccaagacca taatttattg ggatagtcaa acaacaattg aaaaggtttc	840
ctgtgaaatg agatacaagg ctacaacaaa ccaaacttgg aatgttaaag aatttgacac	900
caattttaca tatgtgcaac agtcagaatt ctacttggag ccaaacatta agtacgtatt	960
tcaagtgaga tgtcaagaaa caggcaaaaag gtactggcag ccttggagtt cactgttttt	1020
tcataaaaca cctgaaacag ttccccaggt cacatcaaaa gcattccaac atgacacatg	1080
gaattctggg ctaacagttg cttccatctc tacagggcac cttacttctg acaacagagg	1140
agacattgga cttttattgg gaatgatcgt ctttgctgtt atgttgtcaa ttctttcttt	1200
gattgggata tttaacagat cattccgaac tgggattaaa agaaggatct tattgttaat	1260
accaaaagtgg ctttatgaag atattcctaa tatgaaaaac agcaatgttg tgaaaatgct	1320
acaggaaaaat agtgaactta tgaataataa ttccagtggag caggtcctat atgttgatcc	1380
catgattaca gagataaaaag aaatcttcat ccagaaacac aagcctacag actacaagaa	1440
ggagaatata ggacccttgg agacaagaga ctaccgcaa aactcgctat tcgacaatac	1500
tacagttgta tatattcctg atctcaacac tggatataaa ccccaaattt caaattttct	1560
gcctgagggg agccatctca gcaataataa tgaaattact tccttaacac ttaaaccacc	1620

000213

```

agttgattcc ttagactcag gaaataatcc cagggttaciaa aagcatccta attttgcttt 1680
ttctgtttca agtgtgaatt cactaagcaa cacaatatit cttggagaat taagcctcat 1740
attaaatcaa ggagaatgca gttctcctga catacaaaac tcagtagagg aggaaaccac 1800
catgcttttg gaaaatgatt caccagtgga aactattcca gaacagaccc tgcttcctga 1860
tgaatttgtc tcctgttttg ggatcgtgaa tgaggagttg ccatctatta atacttattt 1920
tccacaaaat attttggaag gccacttcaa taggatttca ctcttggaag agtagagctg 1980
tgtgggtcaa atcaatatga gaaagctgcc ttgcaatctg aacttgggtt ttccctgcaa 2040
tagaaattga attctgcctc tttttgaaaa aaatgtattc acatacaaat cttcacatgg 2100
acacatgttt tcatttccct tggataaata cctaggtagg ggattgctgg gccatatgat 2160
aagcatatgt ttcagttcta ccaatcttgt ttccagagta gtgacatttc tgtgctccta 2220
ccatcaccat gtaagaattc ccgggagctc catgcctttt taatttttagc cattcttctg 2280
cctcatttct taaaattaga gaattaaggt ccgaagggtg gaacatgctt catggtcaca 2340
catacaggca caaaaacagc attatgtgga cgcctcatgt attttttata gagtcaacta 2400
tttctctttt attttccctc attgaaagat gcaaaaacagc tctctattgt gtacagaaag 2460
ggtaaataat gcaaaaatacc tggtagtaaa ataaatgctg aaaattttcc tttaaaaatag 2520
aatcattagg ccaggcgtgg tggctcatgc ttgtaatccc agcactttgg taggctgagg 2580
taggtggatc acctgagggtc aggagttcga gtccagcctg gccaatatgc tgaaaccctg 2640
tctctactaa aattacaaaa attagccggc catggtggca ggtgcttgta atcccagcta 2700
cttggggaggc tgaggcagga gaatcacttg aaccaggaag gcagaggttg cactgagctg 2760
agattgtgcc actgcactcc agcctgggca acaagagcaa aactctgtct ggaaaaaaaa 2820
aaaaaa 2826

```

```

<210> 149
<211> 629
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```
<400> 149
```

```

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

```

000214

Ala	Ser	Met	Tyr	Cys	Thr	Ala	Glu	Cys	Pro	Lys	His	Phe	Gln	Glu	Thr	100	105	110
Leu	Ile	Cys	Gly	Lys	Asp	Ile	Ser	Ser	Gly	Tyr	Pro	Pro	Asp	Ile	Pro	115	120	125
Asp	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Ile	Tyr	Glu	Tyr	Ser	Gly	Asn	Met	Thr	Cys	130	135	140
Thr	Trp	Asn	Ala	Gly	Lys	Leu	Thr	Tyr	Ile	Asp	Thr	Lys	Tyr	Val	Val	145	150	155
His	Val	Lys	Ser	Leu	Glu	Thr	Glu	Glu	Glu	Gln	Gln	Tyr	Leu	Thr	Ser	165	170	175
Ser	Tyr	Ile	Asn	Ile	Ser	Thr	Asp	Ser	Leu	Gln	Gly	Gly	Lys	Lys	Tyr	180	185	190
Leu	Val	Trp	Val	Gln	Ala	Ala	Asn	Ala	Leu	Gly	Met	Glu	Glu	Ser	Lys	195	200	205
Gln	Leu	Gln	Ile	His	Leu	Asp	Asp	Ile	Val	Ile	Pro	Ser	Ala	Ala	Val	210	215	220
Ile	Ser	Arg	Ala	Glu	Thr	Ile	Asn	Ala	Thr	Val	Pro	Lys	Thr	Ile	Ile	225	230	235
Tyr	Trp	Asp	Ser	Gln	Thr	Thr	Ile	Glu	Lys	Val	Ser	Cys	Glu	Met	Arg	245	250	255
Tyr	Lys	Ala	Thr	Thr	Asn	Gln	Thr	Trp	Asn	Val	Lys	Glu	Phe	Asp	Thr	260	265	270
Asn	Phe	Thr	Tyr	Val	Gln	Gln	Ser	Glu	Phe	Tyr	Leu	Glu	Pro	Asn	Ile	275	280	285
Lys	Tyr	Val	Phe	Gln	Val	Arg	Cys	Gln	Glu	Thr	Gly	Lys	Arg	Tyr	Trp	290	295	300
Gln	Pro	Trp	Ser	Ser	Leu	Phe	Phe	His	Lys	Thr	Pro	Glu	Thr	Val	Pro	305	310	315
Gln	Val	Thr	Ser	Lys	Ala	Phe	Gln	His	Asp	Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	Leu	325	330	335
Thr	Val	Ala	Ser	Ile	Ser	Thr	Gly	His	Leu	Thr	Ser	Asp	Asn	Arg	Gly	340	345	350
Asp	Ile	Gly	Leu	Leu	Leu	Gly	Met	Ile	Val	Phe	Ala	Val	Met	Leu	Ser	355	360	365
Ile	Leu	Ser	Leu	Ile	Gly	Ile	Phe	Asn	Arg	Ser	Phe	Arg	Thr	Gly	Ile	370	375	380
Lys	Arg	Arg	Ile	Leu	Leu	Leu	Ile	Pro	Lys	Trp	Leu	Tyr	Glu	Asp	Ile	385	390	395
Pro	Asn	Met	Lys	Asn	Ser	Asn	Val	Val	Lys	Met	Leu	Gln	Glu	Asn	Ser	405	410	415
Glu	Leu	Met	Asn	Asn	Asn	Ser	Ser	Glu	Gln	Val	Leu	Tyr	Val	Asp	Pro	420	425	430
Met	Ile	Thr	Glu	Ile	Lys	Glu	Ile	Phe	Ile	Pro	Glu	His	Lys	Pro	Thr	435	440	445
Asp	Tyr	Lys	Lys	Glu	Asn	Thr	Gly	Pro	Leu	Glu	Thr	Arg	Asp	Tyr	Pro	450	455	460

000215

Gln Asn Ser Leu Phe Asp Asn Thr Thr Val Val Tyr Ile Pro Asp Leu
 465 470 475 480
 Asn Thr Gly Tyr Lys Pro Gln Ile Ser Asn Phe Leu Pro Glu Gly Ser
 485 490 495
 His Leu Ser Asn Asn Asn Glu Ile Thr Ser Leu Thr Leu Lys Pro Pro
 500 505 510
 Val Asp Ser Leu Asp Ser Gly Asn Asn Pro Arg Leu Gln Lys His Pro
 515 520 525
 Asn Phe Ala Phe Ser Val Ser Ser Val Asn Ser Leu Ser Asn Thr Ile
 530 535 540
 Phe Leu Gly Glu Leu Ser Leu Ile Leu Asn Gln Gly Glu Cys Ser Ser
 545 550 555 560
 Pro Asp Ile Gln Asn Ser Val Glu Glu Glu Thr Thr Met Leu Leu Glu
 565 570 575
 Asn Asp Ser Pro Ser Glu Thr Ile Pro Glu Gln Thr Leu Leu Pro Asp
 580 585 590
 Glu Phe Val Ser Cys Leu Gly Ile Val Asn Glu Glu Leu Pro Ser Ile
 595 600 605
 Asn Thr Tyr Phe Pro Gln Asn Ile Leu Glu Ser His Phe Asn Arg Ile
 610 615 620
 Ser Leu Leu Glu Lys
 625

<210> 150
 <211> 2100
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 150
 ggtggctgaa cctcgcaggt ggcagagagg ctcccctggg gctgtggggc tctacgtgga 60
 tccgatggag ccgctgggtga cctgggtggt cccctcctc ttctcttcc tgctgtccag 120
 gcagggcgct gcctgcagaa ccagtgagt ctgttttcag gacccgccat atccggatgc 180
 agactcaggc tcggcctcgg gccctaggga cctgagatgc tatcggatat ccagtgatcg 240
 ttacgagtgc tcctggcagt atgagggtcc cacagctggg gtcagccact tcctgcggtg 300
 ttgccttagc tccgggcgct gctgctactt cgccgccggc tcagccacca ggctgcagtt 360
 ctccgaccag gctgggggtgt ctgtgctgta cactgtcaca ctctgggtgg aatcctgggc 420
 caggaaccag acagagaagt ctctgaggt gaccctgcag ctctacaact cagttaaata 480
 tgagcctcct ctgggagaca tcaaggtgtc caagttggcc gggcagctgc gtatggagtg 540
 ggagaccccg gataaccagg ttggtgctga ggtgcagttc cggcaccgga caccagcag 600
 cccatggaag ttgggcgact gcggacctca ggatgatgat actgagtcct gcctctgccc 660
 cctggagatg aatgtggccc aggaattcca gctccgacga cggcagctgg ggagccaagg 720
 aagttcctgg agcaagtga gcagccccgt gtgcgttccc cctgaaaacc cccacagcc 780

000216

tcagggtgaga ttctcgggtgg agcagctggg ccaggatggg aggaggcggc tgaccctgaa 840
 agagcagcca acccagctgg agcttccaga aggctgtcaa gggctggcgc ctggcacgga 900
 ggtcacttac cgactacagc tccacatgct gtctgcccg tgtaaggcca aggccaccag 960
 gaccctgcac ctggggaaga tgccctatct ctcggtgct gcctacaacg tggctgtcat 1020
 ctctcgaac caatttggtc ctggcctgaa ccagacgtgg cacattcctg ccgacacca 1080
 cacagaacca gtggctctga atatcagcgt cggaaccaac gggaccacca tgtattggcc 1140
 agcccgggct cagagcatga cgtattgcat tgaatggcag cctgtgggcc aggacggggg 1200
 ccttgccacc tgcagcctga ctgcgccga agaccggat ccggtggaa tggcaaccta 1260
 cagctggagt cgagagtctg gggcaatggg gcaggaaaag tgttactaca ttaccatctt 1320
 tgcctctgcg caccocgaga agctcacctt gtggtctacg gtctgtcca cctaccactt 1380
 tgggggcaat gcctcagcag ctgggacacc gcaccacgtc tcggtgaaga atcatagctt 1440
 ggactctgtg tctgtggact gggcaccatc cctgctgagc acctgtcccg gcgtcctaaa 1500
 ggagtatgtt gtccgctgcc gagatgaaga cagcaaacag gtgtcagagc atcccgtgca 1560
 gccacagag acccaagtta ccctcagtgg cctgcgggct ggtgtagcct acacggtgca 1620
 ggtgcgagca gacacagcgt ggctgagggg tgtctggagc cagccccagc gcttcagcat 1680
 cgaagtgcag gtttctgatt ggctcatctt ctgcgctcc ctggggagct tcctgagcat 1740
 ccttctcgtg ggcgtccttg gctaccttg cctgaacagg gccgcacggc acctgtgccc 1800
 gccgctgccc acaccctgtg ccagctccgc cattgagttc cctggaggga aggagacttg 1860
 gcagtggatc aaccagtggt acttccagga agaggcatcc ctgcaggagg ccctggtggt 1920
 agagatgtcc tgggacaaaag gcgagaggac tgagcctctc gagaagacag agctacctga 1980
 ggggtgcccct gagctggccc tggatacaga gttgtccttg gaggatggag acaggtgcaa 2040
 ggccaagatg tgatcgttga ggctcagaga gggtgagtga ctgcgccgag gctacgtagc 2100

<210> 151
 <211> 662
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 151

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

000217

Leu Gln Phe Ser Asp Gln Ala Gly Val Ser Val Leu Tyr Thr Val Thr
 100 105 110
 Leu Trp Val Glu Ser Trp Ala Arg Asn Gln Thr Glu Lys Ser Pro Glu
 115 120 125
 Val Thr Leu Gln Leu Tyr Asn Ser Val Lys Tyr Glu Pro Pro Leu Gly
 130 135 140
 Asp Ile Lys Val Ser Lys Leu Ala Gly Gln Leu Arg Met Glu Trp Glu
 145 150 155 160
 Thr Pro Asp Asn Gln Val Gly Ala Glu Val Gln Phe Arg His Arg Thr
 165 170 175
 Pro Ser Ser Pro Trp Lys Leu Gly Asp Cys Gly Pro Gln Asp Asp Asp
 180 185 190
 Thr Glu Ser Cys Leu Cys Pro Leu Glu Met Asn Val Ala Gln Glu Phe
 195 200 205
 Gln Leu Arg Arg Arg Gln Leu Gly Ser Gln Gly Ser Ser Trp Ser Lys
 210 215 220
 Trp Ser Ser Pro Val Cys Val Pro Pro Glu Asn Pro Pro Gln Pro Gln
 225 230 235 240
 Val Arg Phe Ser Val Glu Gln Leu Gly Gln Asp Gly Arg Arg Arg Leu
 245 250 255
 Thr Leu Lys Glu Gln Pro Thr Gln Leu Glu Leu Pro Glu Gly Cys Gln
 260 265 270
 Gly Leu Ala Pro Gly Thr Glu Val Thr Tyr Arg Leu Gln Leu His Met
 275 280 285
 Leu Ser Cys Pro Cys Lys Ala Lys Ala Thr Arg Thr Leu His Leu Gly
 290 295 300
 Lys Met Pro Tyr Leu Ser Gly Ala Ala Tyr Asn Val Ala Val Ile Ser
 305 310 315 320
 Ser Asn Gln Phe Gly Pro Gly Leu Asn Gln Thr Trp His Ile Pro Ala
 325 330 335
 Asp Thr His Thr Glu Pro Val Ala Leu Asn Ile Ser Val Gly Thr Asn
 340 345 350
 Gly Thr Thr Met Tyr Trp Pro Ala Arg Ala Gln Ser Met Thr Tyr Cys
 355 360 365
 Ile Glu Trp Gln Pro Val Gly Gln Asp Gly Gly Leu Ala Thr Cys Ser
 370 375 380
 Leu Thr Ala Pro Gln Asp Pro Asp Pro Ala Gly Met Ala Thr Tyr Ser
 385 390 395 400
 Trp Ser Arg Glu Ser Gly Ala Met Gly Gln Glu Lys Cys Tyr Tyr Ile
 405 410 415
 Thr Ile Phe Ala Ser Ala His Pro Glu Lys Leu Thr Leu Trp Ser Thr
 420 425 430
 Val Leu Ser Thr Tyr His Phe Gly Gly Asn Ala Ser Ala Ala Gly Thr
 435 440 445
 Pro His His Val Ser Val Lys Asn His Ser Leu Asp Ser Val Ser Val

000218

450	455	460
Asp Trp Ala Pro Ser Leu Leu Ser Thr Cys Pro Gly Val Leu Lys Glu 465 470 475 480		
Tyr Val Val Arg Cys Arg Asp Glu Asp Ser Lys Gln Val Ser Glu His 485 490 495		
Pro Val Gln Pro Thr Glu Thr Gln Val Thr Leu Ser Gly Leu Arg Ala 500 505 510		
Gly Val Ala Tyr Thr Val Gln Val Arg Ala Asp Thr Ala Trp Leu Arg 515 520 525		
Gly Val Trp Ser Gln Pro Gln Arg Phe Ser Ile Glu Val Gln Val Ser 530 535 540		
Asp Trp Leu Ile Phe Phe Ala Ser Leu Gly Ser Phe Leu Ser Ile Leu 545 550 555 560		
Leu Val Gly Val Leu Gly Tyr Leu Gly Leu Asn Arg Ala Ala Arg His 565 570 575		
Leu Cys Pro Pro Leu Pro Thr Pro Cys Ala Ser Ser Ala Ile Glu Phe 580 585 590		
Pro Gly Gly Lys Glu Thr Trp Gln Trp Ile Asn Pro Val Asp Phe Gln 595 600 605		
Glu Glu Ala Ser Leu Gln Glu Ala Leu Val Val Glu Met Ser Trp Asp 610 615 620		
Lys Gly Glu Arg Thr Glu Pro Leu Glu Lys Thr Glu Leu Pro Glu Gly 625 630 635 640		
Ala Pro Glu Leu Ala Leu Asp Thr Glu Leu Ser Leu Glu Asp Gly Asp 645 650 655		
Arg Cys Lys Ala Lys Met 660		

<210> 152
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 152

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc	60
aactgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggtggtt actactggag ctggatccgc	120
cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggcacatcc attacagtgg gaacacctac	180
tacaaccogt cctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaatcagttc	240
tccctgaaac tgagctctgt gactgcgcgc gacacggccg tgtattactg tgcgcgaaat	300
cgcgggttct actacggtat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca	360

<210> 153
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 153

000219

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

<210> 154
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Señal de metiltina de abeja

 <400> 154

Met Lys Phe Leu Val Asn Val Ala Leu Val Phe Met Val Val Tyr Ile
 1 5 10 15
 Ser Tyr Ile Tyr Ala Ala Ala
 20

<210> 155
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Etiqueta His

 <400> 155

His His His His His His
 1 5
 1

000220

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
12 May 2011 (12.05.2011)



(10) International Publication Number
WO 2011/056600 A1

(51) International Patent Classification:
C07K 16/24 (2006.01) **A61K 39/395** (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2010/054148

(22) International Filing Date:
26 October 2010 (26.10.2010)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/254,982 26 October 2009 (26.10.2009) US
61/381,287 9 September 2010 (09.09.2010) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **AMGEN INC.** [US/US]; One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, California 91320 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **TOWNE, Jennifer, E.** [US/US]; 2628 NW 97th Street, Seattle, Washington 98117 (US). **CHENG, Janet, D.** [US/US]; 310 W. Lee Street, Seattle, Washington 98119 (US). **O'NEILL, Jason, C.** [US/US]; 23023 39th Avenue West, Brier, Washington 98036 (US). **ZHANG, Yu** [US/US]; 19141 8th Avenue NW, Shoreline, Washington 98177 (US). **SUN, Yu** [CN/US]; 13747 28th Avenue NE, Seattle, Washington 98125 (US). **CERNE, Heather** [US/US]; 6248 31st Avenue NE, Seattle, Washington 98115 (US). **PIPER, Derek, E.** [US/US]; 675 Giannini Drive, Santa Clara, California 95051 (US). **KETCHEM, Randal, R.** [US/US]; 6332 152nd Street SE, Snohomish, Washington 98296 (US).

(74) Agent: **LINGENFELTER, Susan, E.**; Law Department, Amgen Inc., 1201 Amgen Court West, Seattle, Washington 98119 (US).

(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, CL, 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, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, 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, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, 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, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

— as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))

Published:

— with international search report (Art. 21(3))
— with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))

WO 2011/056600 A1

000221

(54) Title: HUMAN IL-23 ANTIGEN BINDING PROTEINS

(57) Abstract: Antigen binding proteins that bind to human IL-23 protein are provided. Nucleic acids encoding the antigen binding protein, vectors, and cells encoding the same as well as use of IL-23 antigen binding proteins for diagnostic and therapeutic purposes are also provided.



No. 12-068924- -00000-0000

Fecha: 2012-04-26 16:02:40 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 221

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UT

☐	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 ☐



No. 12-068924- 00000-0000

Fecha: 2012-04-26 16:02:40 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 221

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UT

☐	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 ☐