

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

ABOGADOS

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-037909- -00007-0000

Fecha: 2015-02-10 17:19:13 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 45

Trámite: 11
Evento: 378
Actuación: 523

Señor

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

MF

Re: PI.-F.HOFFMANN-LA ROCHE AG.-Solicitud de Patente de Invención en Fase Nacional PCT para "ANTICUERPOS CONTRA LA TWEAK HUMANA".-Clase C07K 16/24.-Expediente número 13-037.909.

1. Me refiero al auto dictado por ese Despacho notificado por fijación en lista de noviembre 19 de 2014.

2. Con el fin de responder las objeciones expuestas por el Señor Examinador en su Concepto Técnico correspondiente al Oficio No. **14271**, en relación con el Título de la solicitud, las Excepciones a la patentabilidad, la Claridad del capítulo reivindicatorio y del Capítulo Descriptivo, la Unidad de Invención y el Nivel Inventivo de la presente solicitud, me permito dirigir su atención a las siguientes modificaciones y argumentos técnicos por medio de los cuales no sólo se superan completamente dichas objeciones sino que además se establece de manera incontrovertible la patentabilidad de la solicitud en estudio.

3. **TÍTULO DE LA SOLICITUD**

Inicialmente, en conexión con el título de la solicitud, el Señor Examinador señala que éste contiene materia no patentable al hacer mención de la frase "usos de los mismos".

Tomando en consideración esta objeción, me permito manifestar que es deseo del solicitante modificar el título de la solicitud, por lo tanto este ahora se lee como sigue:

"ANTICUERPOS CONTRA LA TWEAK HUMANA".

Sobre este particular me permito resaltar que este nuevo título refleja el objeto de la presente invención, por lo tanto supera completamente la objeción presentada por el Señor Examinador a este respecto.

4. **CAPÍTULO REIVINDICATORIO.**

4.1. **MODIFICACIONES AL CAPÍTULO REIVINDICATORIO.**

Por otro lado, me permito manifestar que es deseo del solicitante presentar un **capítulo reivindicatorio modificado**, que reemplaza al actualmente presentado, esto con el fin de superar las objeciones presentadas como parte del concepto técnico realizado por ese Despacho.

En conexión con el mencionado **capítulo reivindicatorio modificado** me permito resaltar que este no se constituye de ninguna manera en una ampliación al alcance de la invención, tal como fue originalmente presentada, toda vez que dicho capítulo fue **significativamente restringido** y define de forma clara y concisa los anticuerpos que se unen específicamente a la TWEAK humana, los cuales comprenden las 6 CDRs definidas en la nueva reivindicación 2, así como las variantes quimérica, humanizada o reducida del epítipo de las células T de tales anticuerpos (nueva reivindicación 1), los cuales están plenamente soportados en la descripción, tales modificaciones se exponen a continuación:

- **Nueva Reivindicación 1.** Presenta sustento en la reivindicación 2 actualmente presentada. Está reivindicación está dirigida a reclamar una variante quimérica, humanizada o reducida del epítipo de las células T de un anticuerpo que contiene un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 17 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 21.

Además se han reemplazado los términos "cadena larga y corta" por "cadena pesada y ligera".

Nuevas Reivindicaciones 2 a 4. Corresponden respectivamente a las reivindicaciones 6 a 8 actualmente presentadas, sin embargo se han reemplazado los términos "cadena larga y corta" por "cadena pesada y ligera" y además su dependencia ha sido adaptada a la nueva numeración.

- **Nueva Reivindicación 5.** Presenta sustento en la reivindicación 9 actualmente presentada. Está reivindicación ahora se ha restringido a las combinaciones de una secuencia variable de cadena ligera/ secuencia variable de cadena pesada elegida entre el grupo formado por las SEQ ID NO: 17/SEQ ID NO: 21, 25/37, 26/38, 27/39, 28/40, 29/41, 30/42, 31/43, 32/44; 33/45, 34/46, 35/47, 36/48.
- **Nueva Reivindicación 6.** Corresponde a la reivindicación 11 actualmente presentada, sin embargo ahora se ha modificado de manera que la composición farmacéutica reclamada comprende un anticuerpo de la invención en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Soporte en la página 10, líneas 16 a 18, y en la página 21, líneas 12 a 17 de la descripción.
- **Nuevas Reivindicaciones 7 a 10.** Corresponden respectivamente a las reivindicaciones 14 a 17 actualmente presentadas y su dependencia ha sido adaptada a la nueva numeración.

Las reivindicaciones 1, 3 a 5, 10, 12 y 13 han sido eliminadas del capítulo reivindicatorio.

De esta forma, el **capítulo reivindicatorio modificado** está constituido por **10 reivindicaciones** que se refieren de manera específica, clara y concisa a las características técnicas esenciales de los anticuerpos que son objeto de la presente solicitud, de acuerdo con las enseñanzas de la descripción.

4.2. CLARIDAD DEL CAPÍTULO REIVINDICATORIO.

Ahora bien, con respecto a la claridad del capítulo reivindicatorio, el señor Examinador afirma lo siguiente:

- 1. "La reivindicación 1 se refiere a un anticuerpo definido solamente por un CDR de cadena pesada, lo cual no permite tener certeza de la estructura completa del anticuerpo. Se sugiere indicar la secuencia aminoácida de las regiones variables de la cadena liviana y pesada ó las secuencias de los 6CDRs de las cadenas pesada y ligera."*

Al respecto, me permito indicar que la objetada reivindicación 1 ya no hace parte del capítulo reivindicatorio modificado que se adjunta con el presente memorial.

2. *"Las reivindicaciones 2, 7 a 10, definen un anticuerpo a partir de cadenas variables "largas y cortas" terminología que no es conocida en el estado de la técnica, también mencionan un sin número de combinaciones entre secuencias de regiones variables de la cadena pesada y ligera del anticuerpo y además no tienen sustento en el capítulo descriptivo. Se sugiere reemplazar los términos "largas y cortas" por "cadena liviana y cadena pesada", definir el anticuerpo a partir de su estructura completa indicando la secuencia aminoácida de las regiones variables de la cadena ligera y pesada ó las secuencias de los 6 CDRs de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo que tienen sustento en la descripción."*

Tomando en cuenta la sugerencia del señor Examinador, en primer lugar cabe señalar que a lo largo del capítulo reivindicatorio modificado se han remplazado los términos "cadena larga y corta" por "cadena pesada y ligera".

En segundo lugar, es importante resaltar que la objetada reivindicación 2 (nueva reivindicación 1) se restringió considerablemente a una variante quimérica, humanizada o reducida del epítotope de las células T de un anticuerpo que contiene un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 17 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 21, lo cual encuentra pleno sustento dentro de la descripción.

Ahora bien, frente a la sugerencia del señor Examinador acerca de: *"definir el anticuerpo a partir de su estructura completa indicando la secuencia aminoácida de las regiones variables de la cadena ligera y pesada ó las secuencias de los 6 CDRs de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo que tienen sustento en la descripción"*, me permito indicar que tal sugerencia ha sido tenida en cuenta, de manera que el capítulo reivindicatorio modificado ha sido considerablemente restringido a los anticuerpos que se unen específicamente a la TWEAK humana, que están definidos a partir de las secuencias de aminoácidos para sus 6 CDRs (nueva reivindicación 2), así como a las variantes quimérica, humanizada o reducida del epítotope de las células T de tales anticuerpos (nueva reivindicación 1).

Asimismo, y respecto a las combinaciones de dominios variables de cadena ligera y pesada que se reclaman en las objetadas reivindicaciones 7 a 9 (nuevas reivindicaciones 3 a 5), muy amablemente me permito resaltar que, contrario a lo que considera el señor Examinador, tales combinaciones en efecto, presentan pleno sustento en el capítulo descriptivo, más específicamente en el cuadro de la página 5, en donde se evidencian que las combinaciones de las diferentes secuencias de dominios variables de cadena pesada y ligera que se reclaman en las reivindicaciones 7 a 9 (nuevas reivindicaciones 3 a 5) forman los anticuerpos particulares numerados como los Anticuerpos N° 27 a 34, así como en la Tabla 6b, en donde se evidencian los resultados respecto al bloqueo de la interacción de la TWEAKhumana/murina con su receptor Fn14 humano/murino y los resultados relacionados con la inhibición de la secreción de la IL-8, producidos con los anticuerpos N° 27 a 34.

Finalmente, respecto a la reivindicación 10, cabe resaltar que ésta ha sido eliminada del capítulo reivindicatorio modificado.

En consecuencia, solicito amablemente a ese Despacho sea retirada la anterior objeción sobre el capítulo reivindicatorio.

3. *"La reivindicación 11 menciona una composición farmacéutica y está definida únicamente por el anticuerpo que contiene. Se sugiere definirla indicando los ingredientes que contiene y la proporción de los mismos."*

Al respecto, me permito indicar que la reivindicación 11 (nueva reivindicación 6) se ha modificado de manera que la composición farmacéutica reclamada comprende un anticuerpo de la invención en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Así, me permito destacar que la manera en que se encuentra redactada la nueva reivindicación 6 permite que ésta sea completamente clara para el experto en la materia, más aún teniendo en cuenta que el objeto principal de la presente solicitud lo constituyen los anticuerpos reclamados.

En este sentido, me permito además señalar que respecto a las composiciones farmacéuticas, la Guía para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad, en su numeral 2.7.3, menciona lo siguiente:

*"Si el objeto de la solicitud es un **nuevo compuesto**, el solicitante tiene derecho a reivindicar las composiciones farmacéuticas caracterizadas por contener ese nuevo compuesto, pero no está obligado a utilizar ejemplos de cómo diseñar y preparar composiciones concretas que contengan el nuevo compuesto porque **"la solución aportada por la invención", es decir el objeto de la invención, es "el nuevo compuesto"** y la persona del oficio normalmente versada en la materia está en capacidad de diseñar y preparar composiciones concretas que contengan el nuevo compuesto, con la información divulgada en la solicitud y con sus conocimientos generales."* (resaltado fuera de texto).

En consecuencia, es claro que no es relevante definir la composición de la nueva reivindicación 6 mediante cada uno de sus ingredientes y su proporción, ya que claramente la solución aportada por la invención o el objeto de la invención lo constituyen los anticuerpos que se reclaman, los cuales como se demostrará más adelante son nuevos e inventivos.

4. *"La reivindicación 14 menciona un ácido nucleico definido por codificar un anticuerpo, lo cual no corresponde a una característica técnica esencial que lo defina. Se sugiere definirlo indicando la secuencia nucleótida que contiene e indicar el número de la misma (SEQ ID NO)".*

Considerando lo anterior, muy respetuosamente me permito manifestar que si bien las secuencias de ácido nucleico no se proporcionan en la reivindicación 14 (nueva reivindicación 7), este hecho no le resta claridad a la reivindicación.

Es de resaltar que la reivindicación 14 (nueva reivindicación 7) menciona claramente que el ácido nucleico al que hace referencia es aquel que codifica un anticuerpo según las nuevas reivindicaciones 1 a 5. En este sentido y dado que las secuencias de aminoácidos que conforman los anticuerpos reclamados en las nuevas reivindicaciones 1 a 5 se encuentran claramente establecidas, la persona versada en la materia puede conocer sin mayor esfuerzo las secuencias de ácidos nucleicos correspondientes, ya que los tripletes de nucleótidos o codones que especifican cada aminoácido durante la síntesis de proteínas son de amplio conocimiento en la técnica.

En consecuencia, es evidente que la reivindicación 14 (Nueva reivindicación 7) es completamente clara, por lo que solicito amablemente a ese Despacho sea retirada dicha objeción.

5. *"La reivindicación 15 menciona vectores de expresión, definidos únicamente por contener un ácido nucleico, lo cual no corresponde a una característica técnica esencial que lo defina. Se sugiere indicar la secuencia recombinante del ácido nucleico que contiene indicando el número de la misma."*

Respecto a lo anterior, respetuosamente me permito destacar que los vectores descritos en la reivindicación 15 (nueva reivindicación 8) son vectores de expresión bien conocidos en la técnica, sin embargo la característica distintiva de dichos vectores consiste en que se encuentran definidos a partir del ácido nucleico que comprenden, el cual codifica un anticuerpo según la presente invención.

Los vectores reclamados en la nueva reivindicación 8 son capaces de expresar dicho ácido nucleico en una célula hospedante procariota o eucariota y células hospedantes que contienen tales vectores para la producción recombinante de los anticuerpos aquí reclamados. Por lo anterior es claro que tal y como se encuentra redactada la reivindicación 15 (nueva reivindicación 8) es suficientemente clara y puede ser reproducida por una persona versada en la materia.

6. *"La reivindicación 16 menciona una célula hospedante, se sugiere definir el tipo de célula."*

En este sentido, amablemente deseo destacar que la célula hospedante de la reivindicación 16 (nueva reivindicación 9) se encuentra claramente definida, dado que la persona versada en la materia a partir de su conocimiento general y más aun a partir de las divulgaciones de la presente solicitud comprendería que la expresión de los anticuerpos que aquí se reclaman se realiza en células hospedantes procariotas o eucariotas apropiadas, por ejemplo en células CHO, células NS0, células SP2/0, células HEK293, células COS, levadura o células de E. coli, así se recupera el anticuerpo de tales células, ya sea del líquido sobrenadante o después de la lisis celular.

Ahora bien, debe tenerse presente que la característica distintiva de dichas células hospedantes consiste en que éstas comprenden un vector de la nueva reivindicación 8, razón por la cual finalmente es posible que con tales células se puedan obtener los anticuerpos de la presente invención. Por lo tanto, la nueva reivindicación 9 es suficientemente clara y puede ser reproducida por una persona versada en la materia, más aún cuando se lee a la luz de las enseñanzas de la descripción y del conocimiento general de la persona versada en la materia.

7. "La reivindicación 17 menciona un método pero este no se define mediante características como alguna etapa en que debiera realizarse, como lo es las etapas para producir un anticuerpo, solamente se está definiendo por el resultado que se pretende alcanzar y es la producción del anticuerpo. Se sugiere, entonces, definir la invención por sus características esenciales, estructurales o funcionales."

A este respecto, cabe mencionar que la reivindicación 17 (nueva reivindicación 10) se ha modificado con el fin de aclarar que el método reclamado, incluye diferentes pasos, es decir los pasos de expresión del ácido nucleico en una célula hospedante y la posterior recuperación del anticuerpo (a y b respectivamente). Dado que los métodos para la producción de proteínas son bien conocidos para la persona versada en la materia, es evidente que la nueva reivindicación 10 es clara por sí misma.

En vista de todo lo discutido anteriormente, resulta evidente que el capítulo reivindicatorio modificado supera completamente las objeciones presentadas por el Señor Examinador y se enmarca completamente dentro de lo preceptuado en el Artículo 30 de la Decisión Andina 486 de 2000.

4.3 EXCEPCIÓN A LA PATENTABILIDAD.

Además, el Señor Examinador indica que el objeto de las reivindicaciones 12 y 13 actualmente presentadas no sería patentable dado que se estaría haciendo referencia a métodos de tratamiento.

Sobre este particular me permito señalar que, las reivindicaciones 12 a 13 se han eliminado del capítulo reivindicatorio modificado, y por lo tanto dicho capítulo reivindicatorio no está de ninguna manera dirigido a materia no patentable.

Por lo tanto me permito señalar que el mencionado capítulo reivindicatorio modificado se ajusta completamente a los requerimientos del Artículo 20 de la Decisión Andina 486 de 2000.

5. CAPÍTULO DESCRIPTIVO.

➤ Primeramente, es importante resaltar que en concordancia con el remplazo de los términos "cadena larga y corta" por "pesada y ligera" en el capítulo reivindicatorio, estos también se han remplazado a lo largo de la descripción, hecho

que evidentemente corresponde a un error de traducción y que se corrige tomando en cuenta la posición del señor Examinador al respecto.

➤ Ahora bien, el señor Examinador señala que la descripción no divulga la invención de manera suficientemente completa para que la persona del oficio normalmente versada en la materia pueda ejecutarla o reproducirla porque, en su opinión, se divulgan de manera general las múltiples combinaciones de secuencias de aminoácidos de los anticuerpos reivindicados. Además, el señor Examinador resalta que el hecho de definirlos por "301", "304", "305", no sugiere que corresponda a todos los anticuerpos reivindicados.

Al respecto, me permito afirmar que contrario a los señalamientos del señor Examinador, la materia reclamada en la presente invención se encuentra suficientemente divulgada a lo largo del capítulo descriptivo, más aun teniendo en cuenta el capítulo reivindicatorio modificado que se anexa al presente memorial.

En este sentido, cabe resaltar que como consecuencia de las modificaciones realizadas sobre el capítulo reivindicatorio, éste ahora se encuentra considerablemente restringido a los anticuerpos de unión a TWEAK humana, en los que sus 6 CDRs corresponden a las SEQ ID Nos 22, 23, 24, 18, 19 y 20, así como a las variantes quimérica, humanizada o reducida del epítotope de las células T de tales anticuerpos.

De hecho, los anticuerpos reclamados en el capítulo reivindicatorio modificado corresponden al anticuerpo 305 o a sus variantes quimérica, humanizada o reducida del epítotope de las células T. Las secuencias de aminoácidos correspondientes al anticuerpo 305 (y sus variantes) se encuentran claramente enseñadas en la Tabla 3 de la página 24 de la descripción, y detalladas en el listado de secuencias correspondiente a la presente solicitud de patente.

Por lo tanto, los anticuerpos reclamados están definidos, ya sea por:

- i) sus seis CDRs;
- ii) su dominio variable de cadena pesada (VH) y su dominio variable de cadena ligera (VL); o
- iii) por ser una variante quimérica, humanizada o reducida del epítotope de las células T de un anticuerpo que está definido específicamente ya sea por sus seis CDRs o por la combinación de sus secuencias de aminoácidos para VH y VL.

Cabe resaltar que las combinaciones de dominios variables de cadena ligera y pesada de las nuevas reivindicaciones 3 a 5, además cuentan con pleno sustento en el cuadro de la página 5, en donde se evidencia que tales combinaciones forman los anticuerpos particulares nombrados como Anticuerpos N° 27 a 34. Igualmente, las tablas 5a, 5b y 6a muestran ensayos realizados con el anticuerpo 305 quimérico y a través de la Tabla 6b, es posible evidenciar los resultados obtenidos respecto al bloqueo de la interacción de la TWEAKhumana/murina con su receptor Fn14 humano/murino, así como los resultados relacionados con la inhibición de la secreción de la IL-8, producidos con los anticuerpos N° 27 a 34 (los cuales son variantes humanizadas del anticuerpo 305).

Finalmente, con referencia a la objeción realizada por el señor Examinador respecto a la descripción de la presente solicitud, muy amablemente me permito llamar la atención sobre el numeral 2.7.2 de la Guía para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad, en donde ese Despacho establece lo siguiente en cuanto a la suficiencia de las solicitudes:

"La invención puede estar suficientemente descrita si se aporta:

*- Un sólo ejemplo o un número razonable de ejemplos, modos de realización alternativos o variaciones que habilitan a la persona del oficio normalmente versada en la materia para que, junto con sus conocimientos generales, pueda poner en práctica la invención en toda el área reivindicada y no sólo algunas especies particulares reivindicadas, sin que requiera de un esfuerzo inventivo. **En tal caso, la presentación de ejemplos relativos a todas las especies particulares de la invención no será condición necesaria para la suficiencia, siempre y cuando dichas especies se mencionen en la descripción (...)**" (resaltado fuera de texto).*

A la luz de lo anterior y teniendo presente que a lo largo de la presente solicitud se mencionan claramente las características técnicas correspondientes al anticuerpo 305 y además se aportan ejemplos de la realización y ensayo de tales anticuerpos, es evidente que la invención se encuentra suficientemente divulgada y puede ser llevada a cabo por la persona experta en la materia, sin que esto de ninguna manera suponga un esfuerzo inventivo de su parte.

Cabe agregar que, habiendo sido desarrolladas las secuencias específicas de aminoácidos para las CDRs y para los dominios VH y VL con los cuales se obtienen los anticuerpos reclamados, éstos pueden ser llevados a cabo fácilmente por la persona experta en la materia.

Por lo tanto, es evidente que el capítulo descriptivo supera completamente las objeciones presentadas a este respecto por el Señor Examinador y se ajusta totalmente a los requerimientos del Artículo 28 de la Decisión Andina 486 de 2000.

6. UNIDAD DE INVENCION.

De otra parte, el Señor Examinador considera que la presente solicitud carecería de unidad de invención, señalando que comprendería al menos 35 grupos inventivos.

Al respecto, y como bien se ha resaltado a lo largo de este memorial, el capítulo reivindicatorio se ha restringido considerablemente a fin de reclamar anticuerpos que se unen específicamente a la TWEAK humana, que están definidos a partir de las secuencias de aminoácidos para sus 6 CDRs (SEQ ID Nos 22, 23, 24, 18, 19 y 20), así como a las variantes quimérica, humanizada o reducida del epítope de las células T de tales anticuerpos.

En consecuencia, es claro que el capítulo reivindicatorio modificado comprende un único concepto inventivo dado por las 6 CDRs (SEQ ID Nos 22, 23, 24, 18, 19 y 20) del anticuerpo 305, las cuales comparten todos los anticuerpos reclamados.

En consecuencia, el capítulo reivindicatorio modificado que se presenta con este memorial se encuentra cobijado bajo el mismo concepto inventivo y por lo tanto dicho capítulo cumple a cabalidad con lo exigido por el Artículo 25 de la Decisión Andina 486 de 2000.

7. NIVEL INVENTIVO.

Finalmente, el Señor Examinador considera que la presente solicitud carecería de altura inventiva con respecto a las enseñanzas de los documentos **US20070110745 (D1) y WO2006096487 (D2).**

A este respecto el Señor Examinador asegura que la persona del oficio normalmente versada en la materia incluiría las modificaciones para anticuerpos anti TWEAK del documento D2 en los anticuerpos divulgados en el D1 para llegar así al objeto de las reivindicaciones 1-10 de la solicitud. Así mismo, considera que la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría el método del documento D1 para llegar así al objeto de la reivindicación 17 de la solicitud.

Sobre este particular me permito señalar que los mencionados documentos no sugieren las secuencias de aminoácidos particulares y específicas de los anticuerpos de la invención, tal y como son reclamadas dentro del capítulo reivindicatorio modificado que se presenta junto con este memorial.

En conexión con lo anterior, cabe resaltar que la reclamación fue considerablemente restringida a los anticuerpos de unión a TWEAK humana, en los que sus 6 CDRs corresponden a las SEQ ID Nos 22, 23, 24, 18, 19 y 20, así como a las variantes quimérica, humanizada o reducida del epítotope de las células T de tales anticuerpos. Asimismo, los anticuerpos reclamados están definidos por su dominio variable de cadena pesada (VH) y su dominio variable de cadena ligera (VL) específicamente combinados, tal y como se detalla en las nuevas reivindicaciones 3, 4 y 5.

Ahora bien, el documento D1 divulga anticuerpos que se unen a TWEAK y se refiere a la inhibición de la TWEAK en el tratamiento de trastornos inmunológicos.

Por su parte, el documento D2 también enseña anticuerpos que se unen a TWEAK y se relaciona con la inhibición de la TWEAK con la indicación principal de tratamiento del cáncer y tratamiento de trastornos inmunológicos.

Sin embargo, tras la atenta revisión de las enseñanzas de D1 y D2, se pudo establecer que tales documentos no divulgan de manera específica los anticuerpos de la invención, tal y como se reclaman en el capítulo reivindicatorio modificado que se presenta junto con este memorial. Los documentos citados no enseñan específicamente un anticuerpo terapéutico y tampoco mencionan, con base en qué propiedades debe seleccionarse tal anticuerpo terapéutico.

Cabe resaltar que el anticuerpo "**305**" de la presente invención fue preparado mediante una estrategia de inmunización especial, esto es la inmunización de conejos con TWEAK humana/murina, con el propósito de generar **anticuerpos anti TWEAK humana/murina de reactividad cruzada**, como bien se detalla en el Ejemplo 1.

Particularmente, fueron seleccionados los anticuerpos que se reclaman en el capítulo reivindicatorio modificado basados no sólo en **su capacidad para unirse a la TWEAK humana y murina**, como bien se indica en el Ejemplo 2, sino también en **su capacidad para neutralizar la interacción de la TWEAK humana/murina con su receptor Fn14**, como se refiere en los Ejemplos 4 y 5.

Adicionalmente, es importante señalar que los anticuerpos que se reclaman en el capítulo reivindicatorio modificado mostraron además, una **vida media del complejo entre la TWEAK y el anticuerpo de 100 minutos o más**, incluso 110 minutos o más a 25°C, lo cual hace posible que los anticuerpos anti-TWEAK que presentan esta vida media sean especialmente preferidos en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, enfermedades musculares, por ejemplo la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, enfermedades renales crónicas, enfermedades óseas, por ejemplo la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y lesiones vasculares (Ver Ejemplo 3).

Es evidente que los documentos D1 y D2 son completamente silentes respecto a la generación de tales anticuerpos de reactividad cruzada y aún más, respecto a sus potenciales ventajas.

En vista de todo lo anterior, es evidente que las enseñanzas divulgadas en los documentos citados, solos o en combinación de ninguna manera pueden conducir a que la persona versada en la materia inequívocamente obtenga los anticuerpos anti TWEAK de la presente invención, los cuales innegablemente poseen propiedades inesperadas y altamente favorables.

Dentro de este marco de ideas, me permito referirme al señalamiento que hace el Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina con respecto a las definiciones de "obvio" y "evidente" en la evaluación del Nivel Inventivo de una solicitud de patente¹:

"Resulta pertinente, a los efectos del artículo 4 de la Decisión 344, definir qué se entiende por "obvio" y por "evidente" a fin de determinar qué se debe entender por nivel inventivo.

Lo obvio es aquello que salta a la vista de manera clara y directa; lo "que se encuentra o pone delante de los ojos, muy claro o que no tiene dificultad". Mientras que lo evidente consiste en la "certeza clara y manifiesta de la que no se puede dudar; cierto, claro, patente y sin la menor duda". De forma que algo que resulte obvio no es necesariamente evidente; empero lo que es evidente, es también obvio.

En este orden de ideas, se puede concluir que una invención goza de nivel inventivo cuando a los ojos de un experto medio en el asunto de que se trate, se necesita algo más que la simple aplicación de los conocimientos técnicos en la

¹ Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina, PROCESO 192-IP-2005

materia para llegar a ella, es decir, que de conformidad con el estado de la técnica el invento no sea consecuencia clara y directa de dicho estado."

En vista de este señalamiento, y a la luz de lo discutido en el presente memorial, me permito resaltar que al no "saltar a la vista de manera clara y directa" a partir de la combinación de los documentos D1 y D2, los anticuerpos que se fijan sobre la TWEAK humana como los considerados en la presente invención, y al no tenerse "certeza clara y manifiesta" de que dichos anticuerpos tendrían una alta capacidad para unirse a la TWEAK humana y murina y de neutralizar la interacción de la TWEAK humana/murina con su receptor Fn14, y mucho menos acerca de la considerable vida media del complejo entre la TWEAK y el anticuerpo, es claro que las enseñanzas de los documentos D1 y D2 no puede de ninguna manera afectar el Nivel Inventivo de la solicitud en estudio.

8. **CONCLUSIÓN.**

Para finalizar me permito resaltar que el capítulo reivindicatorio modificado presentado junto con este memorial es totalmente claro y conciso al reclamar los anticuerpos de la invención, sin hacer referencia a excepciones a la patentabilidad, cumpliendo así con lo exigido por la mencionada Decisión Andina 486 de 2000.

Por otro lado, en virtud de los argumentos discutidos con respecto a los documentos citados, se estableció de manera incontrovertible que los anticuerpos que se fijan sobre la TWEAK humana que son objeto de la solicitud en estudio, de ninguna manera resultarían evidentes para la persona versada en la materia a partir de las enseñanzas de los documentos D1 y D2, solos o en combinación, demostrando irrefutablemente la patentabilidad de la presente solicitud.

9. Anexo me permito presentar:

- (i) Copia de las páginas **1 a 34** que corresponde a la **descripción modificada**, tal como se discutió en el presente memorial; y
- (ii) Copia de las páginas **35 a 37** que corresponde al **capítulo reivindicatorio modificado**, tal como se discutió en el presente memorial, constituido por **10** reivindicaciones.

JOSE LLORED CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

10. En vista de lo anterior, ruego a usted proceder a estudiar nuevamente la solicitud a la luz de las modificaciones y los argumentos presentados y conceder el privilegio de patente solicitado.

Señor Superintendente,



ALICIA LLORED RICAURTE

T. P. 53.215

ANTICUERPOS CONTRA LA TWEAK HUMANA Y USOS DE LOS MISMOS

La presente invención se refiere a anticuerpos contra la TWEAK humana (anticuerpos anti-TWEAK), a métodos para su producción, composiciones farmacéuticas que contienen dichos anticuerpos y a usos de los mismos.

Antecedentes de la invención

La TWEAK humana (UniProtKB O43508, inductora débil de la apoptosis relacionada con el TNF; SEQ ID NO: 60) es una proteína transmembrana de tipo II asociada a la superficie celular. La TWEAK se ha descrito en Chicheportiche, Y. y col., J. Biol. Chem. 272, 32401-32410, 1997; Marsters, S.A. y col., Curr. Biol. 8, 525-528, 1998; Lynch, C.N. y col., J. Biol. Chem. 274, 8455-8459, 1999. La forma activa de la TWEAK es un homotrímero soluble. Las TWEAK humana y murina presentan un 93% de identidad de secuencia en dominio de fijación al receptor. El receptor Fn14 de la TWEAK (proteína de 14 kDa inducible por el factor de crecimiento de fibroblastos) es una proteína transmembrana de tipo I de 129 aminoácidos, formada por un dominio único rico en cisteína en el dominio de fijación al ligando. La señalización de la TWEAK se realiza mediante la activación del mecanismo NF-KB. El mRNA de la TWEAK se expresa en una gran variedad de tejidos y se ha encontrado en la mayoría de órganos principales, por ejemplo el corazón, el cerebro, los músculos esqueléticos y el páncreas, tejidos relacionados con el sistema inmune, por ejemplo el bazo, los nódulos linfáticos y el timo. El mRNA de la Fn14 se ha detectado en el corazón, el cerebro, los pulmones, la placenta, en las células endoteliales vasculares y en las células de los músculos lisos. Los ratones "knockout" de TWEAK nula y Fn14 nulo son viables, sanos y fértiles y tienen más células asesinas naturales y despliegan una respuesta inflamatoria innata intensificada. La TWEAK interviene en la apoptosis, proliferación, angiogénesis, penumbra isquémica, edema cerebral, la esclerosis múltiple.

Los anticuerpos anti-TWEAK se han mencionado en los documentos WO 1998/005783, WO 2000/042073, WO 2003/086311, WO 2006/130429, WO 2006/130374, WO 2006/122187, WO 2006/089095, WO 2006/088890, WO 2006/052926.

5 Resumen de la invención

La invención se refiere a un anticuerpo que se une a la TWEAK humana, caracterizado porque como dominio variable de cadena pesada contiene una región CDR3 (CDR3H) elegida entre el grupo formado por las SEQ ID NO: 8, 16 y 24.

10 La invención comprende una variante quimérica, humanizada o reducida en el epítipo de células T de un anticuerpo que contiene una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 1 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 5, de un anticuerpo que contiene una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 13 o de un anticuerpo que contiene una cadena
15 ligera variable de SEQ ID NO: 17 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 21.

En una forma de ejecución, el anticuerpo se caracteriza por contener una CDR1H de SEQ ID NO: 6, una CDR2H de SEQ ID NO: 7 y una CDR3H de SEQ ID NO: 8.

20 En una forma de ejecución, el anticuerpo se caracteriza por contener una CDR1H de SEQ ID NO: 14, una CDR2H de SEQ ID NO: 15 y una CDR3H de SEQ ID NO: 16.

En una forma de ejecución, el anticuerpo se caracteriza por contener una CDR1H de SEQ ID NO: 22, una CDR2H de SEQ ID NO: 23 y una CDR3H de
25 SEQ ID NO: 24.

En una forma de ejecución, el anticuerpo se caracteriza por contener una CDR1H de SEQ ID NO: 6, una CDR2H de SEQ ID NO: 7, una CDR3H de SEQ ID

NO: 8 y una CDR1L de SEQ ID NO: 2, una CDR2L de SEQ ID NO: 3, una CDR3L de SEQ ID NO: 4.

En una forma de ejecución, el anticuerpo se caracteriza por contener una CDR1H de SEQ ID NO: 14, una CDR2H de SEQ ID NO: 15, una CDR3H de SEQ ID NO: 16 y una CDR1L de SEQ ID NO: 10, una CDR2L de SEQ ID NO: 11, una CDR3L de SEQ ID NO: 12.

En una forma de ejecución, el anticuerpo se caracteriza por contener una CDR1H de SEQ ID NO: 22, una CDR2H de SEQ ID NO: 23, una CDR3H de SEQ ID NO: 24 y una CDR1L de SEQ ID NO: 18, una CDR2L de SEQ ID NO: 19, una CDR3L de SEQ ID NO: 20.

En una forma de ejecución, el anticuerpo se caracteriza por contener como secuencia de dominio variable de cadena ligera una secuencia elegida entre el grupo formado por las SEQ ID NO: 1, 9, 17, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 56 y 58.

En una forma de ejecución, el anticuerpo se caracteriza por contener como secuencia de dominio variable de cadena pesada una secuencia elegida entre el grupo formado por las SEQ ID NO: 5, 13, 21, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 57 y 59.

En una forma de ejecución, el anticuerpo se caracteriza por contener como secuencia de dominio variable de cadena ligera una secuencia elegida entre el grupo formado por las SEQ ID NO: 17, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 y 36 y como secuencia de dominio variable de cadena pesada una secuencia elegida entre el grupo formado por las SEQ ID NO: 21, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47 y 48.

Es preferida una combinación de cadenas variables ligeras y pesadas elegidas entre el grupo formado por: 1/5, 9/13, 17/21, 25/37, 26/38, 27/39, 28/40, 29/41, 30/42, 31/43, 32/44; 33/45, 34/46, 35/47; 36/48, 56/57, 58/59 (p.ej. 17/21

significa un anticuerpo que contiene una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 17 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 21).

Una forma de ejecución de la invención es un anticuerpo que se fija a la TWEAK humana, caracterizado porque contiene una CDR1H de SEQ ID NO: 6, una CDR2H de SEQ ID NO: 7, una CDR3H de SEQ ID NO: 8 y una CDR1L de SEQ ID NO: 2, una CDR2L de SEQ ID NO: 3, una CDR3L de SEQ ID NO: 4.

Una forma de ejecución de la invención es un anticuerpo que se fija a la TWEAK humana, caracterizado porque contiene una CDR1H de SEQ ID NO: 14, una CDR2H de SEQ ID NO: 15, una CDR3H de SEQ ID NO: 16 y una CDR1L de SEQ ID NO: 10, una CDR2L de SEQ ID NO: 11, una CDR3L de SEQ ID NO: 12.

Una forma de ejecución de la invención es un anticuerpo que se fija a la TWEAK humana, caracterizado porque contiene una CDR1H de SEQ ID NO: 22, una CDR2H de SEQ ID NO: 23, una CDR3H de SEQ ID NO: 24 y una CDR1L de SEQ ID NO: 18, una CDR2L de SEQ ID NO: 19, una CDR3L de SEQ ID NO: 20.

Una forma de ejecución de la invención es un anticuerpo que se fija a la TWEAK humana, caracterizado porque contiene a) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 27 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 41, b) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 27 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 44, c) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 27 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 45, d), una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 26 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 47, e), una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 29 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 44, f), una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 31 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 45 o g) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 29 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 41.

Una forma de ejecución de la invención es un anticuerpo que se fija a la TWEAK humana, caracterizado porque contiene a) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 27 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 41, b) una cadena

ligera variable de SEQ ID NO: 27 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 44, c) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 27 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 45, d) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 26 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 47, e) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 29 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 44, f) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 31 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 45, g) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 29 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 41 o h) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 29 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 39.

10 Estos anticuerpos se denominan del modo siguiente en esta solicitud.

Anticuerpo	SEQ ID NO
27	27, 41
28	27, 44
29	27, 45
30	26, 47
31	29, 44
32	31, 45
33	29, 41
34	29, 39

Una forma de ejecución de la invención es un anticuerpo que se fija a la TWEAK humana, caracterizado porque contiene una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 27 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 41, b) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 27 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 45, c) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 29 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 44, d) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 29 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 41 o e) una cadena ligera variable de SEQ ID NO: 29 y una cadena pesada variable de SEQ ID NO: 39.

En una forma de ejecución, el anticuerpo que se fija sobre la TWEAK y se caracteriza por las secuencias de aminoácidos y fragmentos de secuencias de aminoácidos mencionados anteriormente es el isotipo de la IgG1 humana, en una forma de ejecución con las mutaciones L234A + L235A. En una forma de ejecución, el anticuerpo que se fija a la TWEAK y se caracteriza por las secuencias de aminoácidos y fragmentos de secuencias de aminoácidos mencionados anteriormente es el isotipo de la IgG4, con preferencia con las mutaciones S228P y L235E.

Un anticuerpo según la invención se une específicamente a la TWEAK humana y presenta con preferencia una vida media de un complejo entre la TWEAK murina soluble (aminoácidos 81-225 de la SEQ ID NO: 61) y el anticuerpo de 15 minutos o más a 25°C, medido en un ensayo Biacore y se une a la TWEAK murina e inhibe la interacción entre la TWEAK murina y el Fn14 con un valor IC₅₀ de 4,9 ng/ml o inferior.

Con preferencia, un anticuerpo según la invención presenta una vida media de un complejo entre la TWEAK humana soluble (aminoácidos 99-249 de SEQ ID NO: 60) y el anticuerpo de 100 minutos o más, con preferencia de 110 minutos o más a 25°C, medida en un ensayo Biacore. Los anticuerpos anti-TWEAK que presentan esta vida son especialmente preferidos para el uso en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, las enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, las enfermedades renales crónicas, las enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y las lesiones vasculares.

Con preferencia, un anticuerpo según la invención inhibe la interacción entre la TWEAK humana y el Fn14 con un valor IC₅₀ de 3,5 ng/ml o inferior, con preferencia 2,5 ng/ml o inferior. Tal como se emplea aquí, IC₅₀ significa la canti-

dad de anticuerpo que bloquea el 50% de la interacción entre la TWEAK humana y el Fn14.

El anticuerpo es en una forma de ejecución del isotipo de la IgG1 humana, en una forma de ejecución con las mutaciones L234A + L235A. En una forma de ejecución, el anticuerpo según la invención es del isotipo de la IgG4 humana, con preferencia con las mutaciones S228P y L235E. Con preferencia, el anticuerpo es un anticuerpo humano o humanizado.

Otra forma de ejecución de la invención es una composición farmacéutica que contiene un anticuerpo según la invención.

10 Otra forma de ejecución de la invención es el uso de un anticuerpo según la invención para la fabricación de una composición farmacéutica.

Otra forma de ejecución de la invención es un anticuerpo según la invención para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento del cáncer, las enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, las enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, las enfermedades renales crónicas, las enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y las lesiones vasculares.

Otra forma de ejecución de la invención es un anticuerpo según la invención para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento de enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, las enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, las enfermedades renales crónicas, las enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y las lesiones vasculares.

Otra forma de ejecución de la invención es un anticuerpo según la invención para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento de un cáncer de colon, de pulmón o de páncreas.

Otra forma de ejecución de la invención es el uso de un anticuerpo según la invención para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento del cáncer, las enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, las enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, las
5 enfermedades renales crónicas, las enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y las lesiones vasculares.

Otra forma de ejecución de la invención es el uso de un anticuerpo según la invención para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento de
10 enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, las enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, las enfermedades renales crónicas, las enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y las lesiones vasculares.

15 Otra forma de ejecución de la invención es el uso de un anticuerpo según la invención para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento de un cáncer de colon, de pulmón o de páncreas.

Otra forma de ejecución de la invención es un ácido nucleico que codifica a un anticuerpo según la invención.

20 Otra forma de ejecución de la invención un ácido nucleico que codifica un dominio variable de cadena pesada y/o un dominio variable de cadena ligera de un anticuerpo según la invención.

La invención proporciona además vectores de expresión que contienen el ácido nucleico según la invención, capaces de expresar dicho ácido nucleico en
25 una célula hospedante procariota o eucariota y células hospedantes que contienen tales vectores para la producción recombinante de dicho anticuerpo.

La invención comprende además una célula hospedante procariota o eucariota que contiene un vector según la invención.

La invención comprende además un método para la producción de un anticuerpo humano o humanizado recombinante según la invención, caracterizado porque expresa un ácido nucleico según la invención en una célula hospedante procariota o eucariota y para la recuperación de dicho anticuerpo de dicha célula
5 o del líquido sobrenadante del cultivo celular. La invención comprende además el anticuerpo que puede obtenerse por un método recombinante de este tipo.

Los anticuerpos según la invención aportan beneficios a los pacientes que necesitan la terapia dirigida a la TWEAK. Los anticuerpos según la invención tienen propiedades nuevas e inventivas, que aportan beneficios a un paciente que
10 sufra una enfermedad cancerosa, en especial que sufra un cáncer de colon, de pulmón o de páncreas, o que sufra enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, enfermedades renales crónicas, enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y las lesiones vasculares.
15

La invención proporciona además un método para tratar un paciente que sufra un cáncer, en especial un cáncer de colon, de pulmón o de páncreas, o enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, enfermedades
20 renales crónicas, enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y las lesiones vasculares, que consiste en administrar al paciente, al que se ha diagnosticado que padece dicha enfermedad (y por consiguiente que necesita una terapia de este tipo) una cantidad eficaz de un anticuerpo según la invención que se fije sobre la
25 TWEAK. El anticuerpo se administra con preferencia en una composición farmacéutica.

Otra forma de ejecución de la invención es un método para el tratamiento de un paciente que sufra un cáncer, en especial un cáncer de colon, de pulmón o

de páncreas o sufra enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, enfermedades renales crónicas, enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y las lesiones vasculares, caracterizado porque se administra al paciente un anticuerpo según la invención.

La invención comprende además el uso de un anticuerpo según la invención para el tratamiento de un paciente que sufra un cáncer, especialmente un cáncer de colon, de pulmón o de páncreas o sufra enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, enfermedades renales crónicas, enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y las lesiones vasculares y para la fabricación de una composición farmacéutica según la invención. La invención comprende además un método para la fabricación de una composición farmacéutica según la invención.

La invención comprende además una composición farmacéutica que contiene un anticuerpo según la invención, opcionalmente junto con un tampón y/o un adyuvante útiles para la formulación de los anticuerpos con fines farmacéuticos.

La invención proporciona además una composición farmacéutica que contiene un anticuerpo según la invención en un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una forma de ejecución, la composición farmacéutica puede envasarse en un artículo fabricado o en un kit.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: inhibición con anticuerpos según la invención de la artritis inducida por colágeno, un modelo murino de la artritis reumatoide.

Descripción detallada de la invención

El término "anticuerpo" abarca las diversas formas de estructuras de anticuerpo, incluidos, pero sin limitarse a ellos: los anticuerpos de longitud completa, los anticuerpos biespecíficos y los fragmentos de anticuerpos. Los anticuerpos según la invención son con preferencia anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos u otros anticuerpos de ingeniería genética, en el supuesto de que conserven las propiedades características según la invención.

Los "fragmentos de anticuerpo" abarcan una porción del anticuerpo de longitud completa, con preferencia el dominio variable del mismo, o por lo menos su sitio de unión al antígeno. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen a los diacuerpos, las moléculas de anticuerpo de cadena simple y los anticuerpos multiespecíficos formados con fragmentos de anticuerpo. Los anticuerpos scFv se han descrito, p.ej. en Huston, J.S., *Methods in Enzymol.* 203, 46-88, 1991. Además, los fragmentos de anticuerpo comprenden polipéptidos de cadena simple, que tienen las características de un dominio V_H , a saber, de ser capaces de ensamblarse con un dominio V_L , o de un dominio V_L para unirse a la TWEAK, a saber, de ser capaces de ensamblarse con un dominio V_H para formar un sitio de unión funcional al antígeno.

Los términos "anticuerpo monoclonal" o "composición de anticuerpo monoclonal" se emplean aquí para indicar una preparación de moléculas de anticuerpo que tienen una composición única de aminoácidos.

El término "anticuerpo humanizado" indica los anticuerpos, cuya estructura y/o "regiones determinantes de complementariedad" (CDR) se han modificado para que incluyan la CDR de una inmunoglobulina de diferentes especies, si se compara con la inmunoglobulina original. En una forma preferida de ejecución se inserta la CDR de conejo a la región de estructura de un anticuerpo humano para preparar el "anticuerpo humanizado". Véase, p.ej., Riechmann, L. y col., *Nature* 332, 323-327, 1988; y Neuberger, M.S. y col., *Nature* 314, 268-270, 1985.

El término “anticuerpo quimérico” indica un anticuerpo monoclonal que contiene una región variable, es decir, una región de fijación, de una fuente o especie y por lo menos una porción de una región constante derivada de una fuente o especie diferente, que se obtiene habitualmente por técnicas de DNA recombinante. Son especialmente preferidos los anticuerpos quiméricos que tienen una región variable murina y una región constante humana. Tales anticuerpos quiméricos murino/humanos son el producto de genes de inmunoglobulina expresada que contienen segmentos de DNA que codifican a las regiones variables de inmunoglobulina murina y segmentos de DNA que codifican a las regiones constantes de inmunoglobulina humana. Otras formas de “anticuerpos quiméricos” abarcados por la presente invención son aquellas, en las que la clase o subclase se ha modificado o cambiado con respecto a la del anticuerpo original. Tales anticuerpos “quiméricos” se denominan también “anticuerpos de clase modificada”. Los métodos para la obtención de anticuerpos quiméricos incluyen las técnicas convencionales de DNA recombinante y las técnicas de transfección genética, ahora ya bien conocidas en la técnica (véase, p.ej. Morrison, S.L. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 6851-6855, 1984; y las patentes US-5,202,238 y US-5,204,244).

El término “anticuerpo reducido en el epítipo de células T” indica los anticuerpos, que se han modificado para eliminar o reducir la inmunogenicidad eliminando los epítopes de las células T humanas (secuencias peptídicas dentro de las proteínas que tienen la capacidad de unirse a las moléculas de la clase II MHC). Son este método se identifican las interacciones entre las cadenas laterales de aminoácidos del péptido y las bolsas específicas de fijación, que tienen el surco de fijación de la clase II MHC. Las regiones inmunogénicas identificadas se mutan para eliminar la inmunogenicidad. Tales métodos se han descrito en general p.ej. en el documento WO 98/52976.

Los términos “anticuerpo anti-TWEAK” y “un anticuerpo que se une específicamente a la TWEAK” según la invención indican un anticuerpo que se capaz

de fijarse sobre la TWEAK con una afinidad suficiente para que el anticuerpo sea útil como agente terapéutico en la acción dirigida contra la TWEAK según la invención. Un anticuerpo que se fija específicamente sobre la TWEAK tiene una constante de disociación (K_d) de 10^{-9} M o inferior, p.ej. de 10^{-9} M a 10^{-13} M.

5 El "dominio variable" (dominio variable de una cadena ligera (V_L), dominio variable de una cadena pesada (V_H)) se emplea aquí para indicar cada uno de los pares de dominios de cadena ligera y de cadena pesada que intervienen directamente en la fijación del anticuerpo sobre el antígeno.

Los dominios variables de cadena pesada y ligera tienen la misma estructura general y cada dominio consta de cuatro regiones estructurales (framework, 10 FR), cuyas secuencias están ampliamente conservadas, conectadas a tres "regiones hipervariables" (o regiones determinantes de complementariedad, CDR). Las regiones estructurales adoptan una configuración de lámina β y las CDR pueden formar bucles que conectan con la estructura de lámina β . Las CDR de cada 15 cadena se mantienen en su estructura tridimensional gracias a las regiones estructurales y junto con las CDR de la otra cadena forman el sitio de fijación sobre el antígeno. Las regiones CDR3 de cadena pesada y ligera del anticuerpo desempeñan un papel especialmente importante en la especificidad/afinidad de fijación de los anticuerpos según la invención y por ello constituyen otro objeto de 20 la invención.

El término "porción de un anticuerpo que se fija sobre el antígeno" se emplea aquí para indicar los restos aminoácido de un anticuerpo que intervienen en la fijación sobre el antígeno. La porción de un anticuerpo que se fija sobre el antígeno consta de restos aminoácido de las "regiones determinantes de complementariedad" o "CDR". Las regiones "estructurales" o "FR" son aquellas regiones de 25 dominio variable distintas de los restos de región hipervariable ya definidos previamente. Por consiguiente, los dominios variables de cadena ligera y pesada de un anticuerpo contienen desde el extremo N al C de los dominios FR1, CDR1,

FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. En especial, la CDR3 de cadena pesada es la región que contribuye en mayor medida a la fijación sobre el antígeno y define las propiedades del anticuerpo. Las regiones CDR y FR se determinan con arreglo a la definición estándar de Kabat y col., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991) y/o los restos de un "bucle hipervariable".

El término "CDR1H" indica la región CDR1 de la región variable de cadena pesada calculada con arreglo a Kabat. CDR2L, CDR3H, etc. indican las regiones correspondientes de la cadena pesada (H) o de la cadena ligera (L). Por ejemplo, un anticuerpo caracterizado porque contiene una CDR1H de SEQ ID NO: 6 significa que el anticuerpo contiene esta secuencia de aminoácidos en forma de región CDR1 de cadena pesada variable CDR1 en su cadena pesada variable. Por ejemplo, un anticuerpo caracterizado porque contiene una CDR1H de SEQ ID NO: 6, una CDR2H de SEQ ID NO: 7, una CDR3H de SEQ ID NO: 8 significa que el anticuerpo contiene en su cadena pesada como secuencia de CDR1 la SEQ ID NO: 6, como secuencia de CDR2 la SEQ ID NO: 7 y como secuencia de CDR3 la SEQ ID NO: 8.

Los términos "ácido nucleico" o "molécula de ácido nucleico" se emplean aquí para incluir las moléculas de DNA y las moléculas de RNA. Una molécula de ácido nucleico puede ser de hebra simple o de doble hebra, pero con preferencia será un DNA de doble hebra.

El término "aminoácido" se emplea en esta solicitud para indicar un grupo de ácidos α -aminocarboxílicos de origen natural, formado por la alanina (código de tres letras: ala, código de una letra: A), arginina (arg, R), asparagina (asn, N), ácido aspártico (asp, D), cisteína (cys, C), glutamina (gln, Q), ácido glutámico (glu, E), glicina (gly, G), histidina (his, H), isoleucina (ile, I), leucina (leu, L), lisina (lys, K), metionina (met, M), fenilalanina (phe, F), prolina (pro, P), serina (ser, S), treonina (thr, T), triptófano (trp, W), tirosina (tyr, Y) y valina (val, V).

Un ácido nucleico es "unido operativamente" cuando está situado en relación funcional con otro ácido nucleico. Por ejemplo, el DNA de una presecuencia o de un líder secretorio es unido operativamente al DNA de un polipéptido, si se expresa como preproteína que participa en la secreción del polipéptido; un promotor o intensificador está unido operativamente a una secuencia codificadora, si efectúa la transcripción de la secuencia; o un sitio de unión a un ribosoma está unido operativamente a una secuencia codificadora, si está posicionado de modo que facilite la traducción. En general, "unido operativamente" significa que las secuencias de DNA que se van a unir son colineales y, en el caso de líder secretorio, que son contiguas y dentro del marco de lectura. Sin embargo, los intensificadores no tienen porqué ser contiguos. La unión se realiza por ligación en los sitios de restricción adecuados. Si no existen tales sitios, entonces se emplean adaptadores oligonucleótidos sintéticos o engarces con arreglo a la práctica convencional.

Las expresiones "célula", "línea celular" y "cultivo celular" se emplean aquí de modo indistinto y estos términos incluyen las progenies. Por lo tanto, los términos "transformantes" y "células transformadas" incluyen las células que son objeto primario y los cultivos derivados de las mismas, con independencia del número de transferencia. Se da también por supuesto que toda la progenie no necesariamente tiene que ser idéntica en su contenido de DNA, debido a las mutaciones deliberadas o inadvertidas. Se incluye la progenie variante que tiene la misma función o la misma actividad biológica, después de explorarse en las células originalmente transformadas.

La "parte Fc" de un anticuerpo no participa directamente en la fijación sobre un antígeno, pero posee varias funciones efectoras. Una "parte Fc de un anticuerpo" es un término que los expertos conocen bien y se define en base a la descomposición de anticuerpos con papaína. En función de la secuencia de aminoácidos de la región constante de sus cadenas pesadas, los anticuerpos se divi-

den en los subgrupos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM y varios de ellos pueden dividirse a su vez en subgrupos (isotipos; las expresiones "isotipo" y "subgrupo" se emplean aquí indistintamente), por ejemplo el IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, IgA1 e IgA2. Con arreglo a las regiones constantes de cadena pesada, los diferentes grupos de

5 inmunoglobulinas se denominan α , δ , ϵ , γ y μ , respectivamente. La parte Fc de un anticuerpo no interviene directamente en la ADCC (citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo) ni en la CDC (citotoxicidad dependiente de complemento) basadas en la activación de complemento, fijación sobre el C1q y fijación sobre el receptor de Fc. La activación de complemento (CDC) se inicia

10 uniendo el factor de complemento C1q a la parte Fc de la mayor parte de subgrupos de anticuerpos IgG. La influencia de un anticuerpo en el sistema de complemento depende de ciertas condiciones, mientras que la fijación sobre el C1q se realiza gracias a sitios de fijación definidos existentes en la parte Fc. Estos sitios de fijación son conocidos en la técnica y se han descrito p.ej. en Boackle, R.J. y

15 col., Nature 282, 742-743, 1979; Lukas, T.J. y col., J. Immunol. 127, 2555-2560, 1981; Brunhouse, R. y Cebra, J.J., Mol. Immunol. 16, 907-917, 1979; Burton, D.R. y col., Nature 288, 338-344, 1980; Thommesen, J.E. y col., Mol. Immunol. 37, 995-1004, 2000; Idusogie, E.E. y col., J. Immunol. 164, 4178-4184, 2000; Hezareh, M. y col., J. Virology 75, 12161-12168, 2001; Morgan, A. y col., Immunology

20 86, 319-324, 1995; EP 0307434. Tales sitios de fijación son p.ej. L234, L235, D270, N297, E318, K320, K322, P331 y P329 (numeración con arreglo al índice EU de Kabat, E.A., ver más abajo). Los anticuerpos de los subgrupos IgG1, IgG2 y IgG3 normalmente presentan activación de complemento y fijación sobre el C1q y C3, mientras que el IgG4 no activa el sistema de complemento y no se une al

25 C1q ni al C3.

En una forma de ejecución, el anticuerpo según la invención contiene una parte Fc derivada de origen humano y con preferencia todas las demás partes de las regiones constantes humanas. Tal como se emplea aquí, el término "parte Fc

derivada de origen humano" indica una parte Fc que es una parte Fc de un anticuerpo humano de los subgrupos IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, con preferencia una parte Fc del subgrupo IgG1 humano, una parte Fc mutada del subgrupo IgG1 humano (con preferencia con una mutación en L234A + L235A), una parte Fc del subgrupo IgG4 humano o una parte Fc mutada del subgrupo IgG4 humano (con preferencia con una mutación en S228P y L235E). Son especialmente preferidas las regiones constantes de cadena pesada humanas del subgrupo IgG1 humano que tienen la SEQ ID NO: 51 ó SEQ ID NO: 52 (subgrupo IgG1 humano), SEQ ID NO: 53 (del subgrupo IgG1 humano con las mutaciones L234A y L235A), SEQ ID NO: 54 (del subgrupo IgG4 humano) o de la SEQ ID NO: 55 (del subgrupo IgG4 humano con las mutaciones S228P y L235E).

Con preferencia, el anticuerpo según la invención es del subgrupo IgG1 humano o de un subgrupo IgG4 humano. En una forma de ejecución, el anticuerpo según la invención es del subgrupo IgG1 humano. En una forma de ejecución, el anticuerpo de la invención es del subgrupo IgG4 humano.

El anticuerpo de la invención se caracteriza porque las cadenas constantes son de origen humano. Estas cadenas constantes son bien conocidas en el estado de la técnica y se han descrito p.ej. en Kabat (véase, p.ej. Johnson, G. y Wu, T.T., Nucleic Acids Res. 28, 214-218, 2000). Por ejemplo, una región constante de cadena pesada humana útil comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 52 ó 28. Por ejemplo, una región constante de cadena ligera humana útil comprende una secuencia de aminoácidos de una región constante de cadena ligera kappa de la SEQ ID NO: 49. Es preferido además que el anticuerpo tenga por origen el conejo y comprenda el marco de secuencia de variable de anticuerpo de un anticuerpo de conejo según Kabat (véase p.ej. Sequences of Proteins of Immunological Interest, Kabat, E.A. y col., 5ª edición, DIANE Publishing (1992)).

La invención proporciona también un método de tratamiento de un paciente que necesite esta terapia, caracterizado por administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo según la invención.

La invención proporciona también el uso de un anticuerpo según la invención con fines terapéuticos.

La invención proporciona el uso de un anticuerpo según la invención para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento del cáncer, en especial del cáncer de colon, de pulmón o de páncreas o al tratamiento de enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, enfermedades renales crónicas, enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y las lesiones vasculares.

La invención proporciona el uso de un anticuerpo según la invención para el tratamiento del cáncer o de enfermedades inflamatorias, con preferencia para el tratamiento del cáncer de colon, de pulmón o de páncreas o para el tratamiento de enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, enfermedades renales crónicas, enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y las lesiones vasculares.

Otra forma de ejecución de la invención es un método para la producción de un anticuerpo contra la TWEAK, caracterizado porque la secuencia del ácido nucleico que codifica a la cadena pesada del anticuerpo según la invención y el ácido nucleico que codifica la cadena ligera de dicho anticuerpo se insertan en uno o dos vectores de expresión, dichos vectores de expresión se insertan en una célula hospedante eucariota, el anticuerpo codificado se expresa y se recupera de la célula hospedante o del líquido sobrenadante del cultivo celular.

Los anticuerpos según la invención se producen con preferencia por métodos recombinantes. Estos métodos son ampliamente conocidos en el estado de la técnica y comprenden la expresión de proteínas en células procariotas y eucariotas con el posterior aislamiento del polipéptido del anticuerpo y normalmente la
5 purificación que conduce a una pureza farmacéuticamente aceptable. Para la expresión de proteínas se insertan los ácidos nucleicos que codifican a las cadenas ligera y pesada o fragmentos de las mismas en vectores de expresión por método estándar. La expresión se realiza en células hospedantes procariotas o eucariotas apropiadas, por ejemplo las células CHO, las células NS0, las células
10 SP2/0, las células HEK293, las células COS, la levadura o células de *E. coli* y se recupera el anticuerpo de las células (o del líquido sobrenadante o después de la lisis de las células).

La producción recombinante de anticuerpos se ha descrito por ejemplo en los artículos de revisión de Makrides, S.C., *Protein Expr. Purif.* 17, 183-202, 1999;
15 Geisse, S. y col., *Protein Expr. Purif.* 8, 271-282, 1996; Kaufman, R.J., *Mol. Biotechnol.* 16, 151-160, 2000; Werner, R.G., *Drug Res.* 48, 870-880, 1998.

Los anticuerpos pueden estar presentes en células enteras, en el lisado celular o en forma parcial o sustancialmente pura. La purificación se realiza con el fin de eliminar otros componentes celulares u otros contaminantes, p.ej., otros
20 ácidos nucleicos o proteínas celulares, por métodos estándar (véase Ausubel, F. y col. (coord.), *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing y Wiley Interscience, Nueva York, 1987).

La expresión de las células NS0 se ha descrito p.ej. en Barnes, L.M. y col., *Cytotechnology* 32, 109-123, 2000; Barnes, L.M. y col., *Biotech. Bioeng.* 73,
25 261-270, 2001. La expresión transitoria se ha descrito p.ej. en Durocher, Y. y col., *Nucl. Acids Res.* 30, E9, 2002. La clonación de dominios variables se ha descrito en Orlandi, R. y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 3833-3837, 1989; Carter, P. y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 4285-4289, 1992; Norderhaug, L. y col., J.

Immunol. Methods 204, 77-87, 1997. Un sistema preferido de expresión transitoria (HEK 293) se ha descrito en Schlaeger, E.-J. y Christensen, K., en Cytotechnology 30, 71-83, (1999) y en Schlaeger, E.-J., en J. Immunol. Methods 194, 191-199, 1996.

5 De modo conveniente, los anticuerpos monoclonales se separan del medio de cultivo por procedimientos convencionales de purificación de inmunoglobulinas, por ejemplo, cromatografía de proteínas a través de A-Sepharose, hidroxilapatita, electroforesis a través de gel, diálisis o cromatografía de afinidad. El DNA y el RNA que codifican a los anticuerpos monoclonales se aíslan fácilmente y se
10 secuencian aplicando procedimientos convencionales. Las células de hibridoma pueden servir como fuentes de dichos DNA y RNA. Una vez aislado, el DNA puede insertarse en vectores de expresión, que después se transfectan a las células hospedantes, por ejemplo células HEK 293, células CHO o células de mieloma, que de otro modo no producen la proteína de la inmunoglobulina, para sintetizar
15 los anticuerpos monoclonales recombinantes en las células hospedantes.

Las moléculas de ácido nucleico que codifican a las variantes de secuencias de aminoácidos del anticuerpo anti-pS422 se obtienen por un gran número de métodos ya conocidos de la técnica. Estos métodos incluyen, pero no se limitan a: el aislamiento de una fuente natural (en el caso de variantes de secuencias
20 de aminoácidos de origen natural) o la preparación por mutagénesis mediada por oligonucleótidos (o dirigida a un sitio), mutagénesis por PCR y la mutagénesis de cassette de una variante preparada anteriormente o de una versión no variante del anticuerpo anti-TWEAK humanizado.

Los dominios variables de cadena pesada y ligera según la invención se
25 combinan con secuencias de promotor, inicio de traducción, región constante, región 3' sin traducir, poliadenilación y terminación de transcripción, para formar los constructos de vectores de expresión. Los constructos de expresión de cadena pesada y ligera pueden combinarse en un solo vector, co-transfectarse, trans-

fectarse en serie o transfectarse por separado a células hospedantes, que después se fusionan para formar una célula hospedante individual que expresa ambas cadenas.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición, p.ej.
5 una composición farmacéutica, que contiene un anticuerpo o una combinación de anticuerpos monoclonales, o la porción de los mismos que se une al antígeno, de la presente invención, formulados con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Tal como se emplea aquí, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye todos disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos
10 y antifúngicos, agentes isotónicos y agentes que retrasan la absorción/resorción y similares, que son fisiológicamente compatibles. Con preferencia, el vehículo es idóneo para la inyección o la infusión.

Una composición de la presente invención puede administrarse por una gran variedad de métodos ya conocidos en la técnica. Los expertos podrán en-
15 tender fácilmente que la vía y/o el modo de administración pueden variar en función de los resultados deseados.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen las soluciones o dispersiones acuosas estériles y los polvos estériles para la fabricación de soluciones o dispersiones estériles inyectables. El uso de tales medios y agentes para
20 sustancias farmacéuticamente activas ya es conocido en la técnica. Además del agua, el vehículo puede ser, por ejemplo, una solución salina tamponada isotónica.

Con independencia de la vía de administración elegida, los compuestos de la presente invención, que pueden utilizarse en una forma hidratada apropiada
25 y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formula en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables por métodos convencionales, que los expertos ya conocen.

Los niveles actuales de dosificación de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden variarse con el fin de obtener una cantidad de ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración concretos, sin que sean tóxicos para el paciente (cantidad eficaz). El nivel de dosificación elegido dependerá de un gran número de factores farmacocinéticos, incluida la actividad de las composiciones concretas de la presente invención que se emplean, o del éster, de la sal o de la amida de los mismos, de la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción del compuesto concreto que se emplee, de otros fármacos, compuestos y/o materiales empleados en combinación con las composiciones concretas que se empleen, la edad, el sexo, el peso, el estado general de salud y el historial médico previo del paciente a tratar y factores similares, bien conocidos en medicina.

La invención proporciona el uso de los anticuerpos según la invención para el tratamiento de un paciente que sufra un cáncer, en especial un cáncer de colon, de pulmón o de páncreas o sufra enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, enfermedades renales crónicas, enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y las lesiones vasculares.

La invención proporciona también un método para el tratamiento de un paciente que sufra este tipo de enfermedades.

La invención proporciona además un método para la fabricación de una composición farmacéutica que contiene un anticuerpo según la invención junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable y el uso del anticuerpo según la invención para dicho método.

La invención proporciona además el uso de un anticuerpo según la invención en una cantidad eficaz para fabricar un agente farmacéutico, con preferencia

junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable, destinado al tratamiento de un paciente que sufra un cáncer, en especial un cáncer de colon, de pulmón o de páncreas o que sufra enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, enfermedades renales crónicas, enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y las lesiones vasculares.

La invención proporciona también el uso de un anticuerpo según la invención en una cantidad eficaz para la fabricación de un agente farmacéutico, con preferencia junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable, destinado al tratamiento de un paciente que sufra un cáncer, en especial un cáncer de colon, de pulmón o de páncreas o que sufra enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, enfermedades renales crónicas, enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y las lesiones vasculares.

Descripción de las secuencias

Tabla 1

Anticuerpo 301

dominio variable de de cadena ligera (VL) de conejo	SEQ ID NO: 1
CDR1L	SEQ ID NO: 2
CDR2L	SEQ ID NO: 3
CDR3L	SEQ ID NO: 4
dominio variable de cadena pesada (VH) de conejo	SEQ ID NO: 5
CDR1H	SEQ ID NO: 6
CDR2H	SEQ ID NO: 7
CDR3H	SEQ ID NO: 8
cadena ligera quimérica 301	SEQ ID NO: 56
cadena pesada quimérica 301	SEQ ID NO: 57

Tabla 2

Anticuerpo 304

dominio variable de cadena ligera (VL) de conejo	SEQ ID NO: 9
CDR1L	SEQ ID NO: 10
CDR2L	SEQ ID NO: 11
CDR3L	SEQ ID NO: 12
dominio variable de cadena pesada (VH) de conejo	SEQ ID NO: 13
CDR1H	SEQ ID NO: 14
CDR2H	SEQ ID NO: 15
CDR3H	SEQ ID NO: 16
cadena ligera quimérica 304	SEQ ID NO: 58
cadena pesada quimérica 304	SEQ ID NO: 59

Tabla 3

Anticuerpo 305

dominio variable de cadena ligera (VL) de conejo	SEQ ID NO: 17
CDR1L	SEQ ID NO: 18
CDR2L	SEQ ID NO: 19
CDR3L	SEQ ID NO: 20
dominio variable de cadena pesada (VH) de conejo	SEQ ID NO: 21
CDR1H	SEQ ID NO: 22
CDR2H	SEQ ID NO: 23
CDR3H	SEQ ID NO: 24
cadena ligera quimérica 305	SEQ ID NO: 25
variante humanizada de VL, 305-LC1	SEQ ID NO: 26
variante humanizada de VL, 305-LC2	SEQ ID NO: 27
variante humanizada de VL, 305-LC3	SEQ ID NO: 28
variante humanizada de VL, 305-LC4	SEQ ID NO: 29
variante humanizada de VL, 305-LC5	SEQ ID NO: 30
variante humanizada de VL, 305-LC6	SEQ ID NO: 31
variante humanizada de VL, 305-LC7	SEQ ID NO: 32
variante humanizada de VL, 305-LC8	SEQ ID NO: 33

variante humanizada de VL, 305-LC9	SEQ ID NO: 34
variante humanizada de VL, 305-LC10	SEQ ID NO: 35
variante humanizada de VL, 305-LC11	SEQ ID NO: 36
cadena pesada quimérica 305	SEQ ID NO: 37
variante humanizada de VH, 305-HC1	SEQ ID NO: 38
variante humanizada de VH, 305-HC2	SEQ ID NO: 39
variante humanizada de VH, 305-HC3	SEQ ID NO: 40
variante humanizada de VH, 305-HC4	SEQ ID NO: 41
variante humanizada de VH, 305-HC5	SEQ ID NO: 42
variante humanizada de VH, 305-HC6	SEQ ID NO: 43
variante humanizada de VH, 305-HC7	SEQ ID NO: 44
variante humanizada de VH, 305-HC8	SEQ ID NO: 45
variante humanizada de VH, 305-HC9	SEQ ID NO: 46
variante humanizada de VH, 305-HC10	SEQ ID NO: 47
variante humanizada de VH, 305-HC11	SEQ ID NO: 48

Tabla 4a

Regiones constantes humanas

cadena ligera kappa humana	SEQ ID NO: 49
cadena ligera lambda humana	SEQ ID NO: 50
IgG1 humana (alotipo caucasiano)	SEQ ID NO: 51
IgG1 humana (alotipo afroamericano)	SEQ ID NO: 52
IgG1 mutante LALA humana (alotipo caucasiano)	SEQ ID NO: 53
IgG4 humana	SEQ ID NO: 54
IgG4 mutante SPLE humana	SEQ ID NO: 55

Tabla 4b

TWEAK humana y murina

TWEAK humana	SEQ ID NO: 60
TWEAK murina	SEQ ID NO: 61

5 Los ejemplos y listado de secuencias que siguen se proporcionan para facilitar la comprensión de la presente invención, cuyo verdadero alcance se define

en las reivindicaciones anexas. Se da por supuesto que pueden introducirse modificaciones en los procedimientos descritos sin apartarse del espíritu de la invención.

Ejemplo 1

5 Descripción de la inmunización

Inmunización de conejos con TWEAK humana/murina

Se inmunizan conejos blancos de Nueva Zelanda (*Oryctolagus cuniculus*) con 400 µg de TWEAK humana recombinante en el día 0 con adyuvante de Freund completo, con 200 µg de TWEAK humana en los días 21, 43 y 65 con
10 adyuvante de Freund incompleto y con 200 µg de TWEAK murina el día 85 con adyuvante de Freund incompleto. Todas las inmunizaciones se realizan por vía subcutánea en varios sitios. Se preparan los sueros en los días 77 y 98 para determinar su concentración. La dosis de refuerzo final se inyecta por vía intravenosa de 200 µg de TWEAK humana soluble y 200 µg de TWEAK murina soluble y
15 se seleccionan los anticuerpos en base a su capacidad para fijarse sobre la TWEAK humana y murina (ejemplo 2), se neutraliza la interacción TWEAK-Fn14 humana y murina (ejemplos 4 y 5) y se inhibe la secreción de la IL8 (ejemplo 6). Se investiga además la vida media del complejo anticuerpo-TWEAK (ejemplo 3). Se determina la eficacia anti-tumoral del anticuerpo en modelos de injerto ajeno
20 (xenograft) de B16BL6 (melanoma murino; sublínea pulmonar metastásica de B16), SJSA (osteosarcoma, ATCC CRL-2098) y HCT-116 (colon, ATCC CCL-247).

Ejemplo 2

Fijación sobre la TWEAK humana y murina (ELISA)

25 Se determina la fijación de los anticuerpos anti-TWEAK sobre la TWEAK humana y murina mediante un ensayo ELISA. Se inmovilizan las TWEAK humana y murina recombinantes en una placa Nunc Maxisorp de 384 hoyos a razón de 1 µg/ml, 25 µl/hoyo, en tampón de recubrimiento de carbonato 0,5 M, de pH 9,5,

por incubación a 2-8°C durante una noche. Se bloquea la placa con PBS/1% de BSA a temperatura ambiente durante 1 h, después se lava dos veces (Tween® 20 al 0,1% en PBS) y se incuba con anticuerpos anti-TWEAK de diferentes concentraciones en tampón de bloqueo o con líquidos sobrenadantes de hibridoma de dichos anticuerpos a temperatura ambiente durante 1 h. Después de cuatro lavados más se detectan los anticuerpos con un anticuerpo anti-conejo-HRP diluido 1:5000 en tampón de bloqueo, a temperatura ambiente durante 1 h. Se revela la señal por adición de ABTS® (Roche Diagnostics GmbH) durante 10-30 minutos después de haber realizado otros cuatro pasos de lavado. Se lee la absorbancia a 405 nm.

Ejemplo 3

Determinación de la vida media del complejo anticuerpo-TWEAK realizando un ensayo Biacore

Se emplea un instrumento Biacore 2000 con un sensor de Biacore recubierto con estreptavidina montado en el sistema. Se emplea el tampón del sistema HBS-ET (10 mM HEPES de pH 7,4, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0,05% de Tween® 20) con un caudal de 100 µl/min. El tampón de la muestra es el tampón del sistema. Se inmovilizan la TWEAK humana soluble biotinilada (aminoácidos 99-249 de la SEQ ID NO: 60) y la TWEAK murina soluble biotinilada (aminoácidos 81-225 de la SEQ ID NO: 61) sobre diferentes celdillas de flujo en un sensor SA con 150 RU cada una. Se emplea como celdilla de referencia en blanco una celdilla de flujo FC1. Se inyecta cada anticuerpo en el sistema en forma de analito en una concentración de 100 nM con un caudal de 100 µl/min durante un tiempo de asociación de 2 min. Se hace el seguimiento de la disociación de los inmunocomplejos durante 5 min. Se lava la superficie del sensor con HBS-ET durante 10 segundos y se regenera realizando inyecciones de 2x2 minutos con glicina 10 mM de pH 2,25. Se efectúa este procedimiento a 25°C. Se toma el paso que limita la constante cinética de la fase de disociación del complejo en el intervalo [240s-

300s] para calcular la constante de disociación k_d [1/s] (Biacore Evaluation Software 4.0). Según la ecuación $t_{1/2 \text{ dis.}} = \ln(2) / (60 \times k_d)$ se calcula la vida media de los inmunocomplejos en minutos. Los resultados se recogen en las tablas 5a y 5b, y en la tabla 6b.

5

Tabla 5a

Anticuerpo		TWEAK humana t/2 dis. [min] 25°C	TWEAK murina t/2 dis. [min] 25°C
TW-301chi	quimérico ¹⁾	110	n.d.
TW-304chi	quimérico ¹⁾	37	n.d.
TW-305chi	quimérico ¹⁾	147	39
P2D10 quimérico	quimérico ¹⁾	76	41

¹⁾: regiones constantes humanas de la región constante de cadena ligera kappa humana de la SEQ ID NO: 49 y la región constante de la IgG1 humana de la SEQ ID NO: 51

10

En otro ensayo se determina la vida de los complejos de anticuerpo-TWEAK (t/2 dis. [min] a 25°C) del TWI-305chi quimérico y de la versión quimérica del P2D10 de WO 2006/130374 (los dos anticuerpos quiméricos tienen regiones constantes humanas de la región constante humana kappa de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49 y de la región constante de la IgG1 humana de la SEQ ID NO: 51)

15

Tabla 5b

Anticuerpo		TWEAK humana t/2 dis. [min] 25°C	TWEAK murina t/2 dis. [min] 25°C
TW-305chi	quimérico ¹⁾	148	41

P2D10 quimérico	quimérico ¹⁾	76	41
-----------------	-------------------------	----	----

¹⁾: regiones constantes humanas de la región constante de cadena ligera kappa humana de la SEQ ID NO: 49 y la región constante de la IgG1 humana de la SEQ ID NO: 51

Los anticuerpos según la invención poseen propiedades valiosas, por ejemplo una vida media del complejo entre la TWEAK humana soluble (aminoácidos 99-249 de SEQ ID NO: 60) y anticuerpo de 100 minutos o más, con preferencia de 110 minutos o más, a 25°C, determinada por un ensayo Biacore. Los anticuerpos anti-TWEAK que presenta esta vida media son especialmente preferidos para el uso en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, la artritis reumatoide, la artritis psoriática, enfermedades musculares, p.ej. la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, enfermedades renales crónicas, enfermedades óseas, p.ej. la degeneración ósea en el mieloma múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la nefritis por lupus y lesiones vasculares.

Ejemplo 4

Neutralización de la interacción TWEAK-Fn14 (humana)

El bloqueo de la interacción TWEAK humana/Fn14 humano se pone de manifiesto con un ensayo ELISA de interacción con el receptor. Se recubren placas Maxisorp® de 96 hoyos (Nunc) con 100 µl de 1 µg/ml de Fn14:Fc humano (dominio extracelular del Fn14 humano (aminoácidos 1-75) fusionado con la porción Fc de la IgG1 humana) en PBS por hoyo a temperatura ambiente durante 1,5 h y se bloquean con una solución de FBS al 5% en PBS a temperatura ambiente durante 30 minutos con agitación. Mientras se incubaba la TWEAK soluble humana marcada con Flag (aminoácidos 106-249) a razón de 2,5 ng/ml en solución de bloqueo con diferentes concentraciones de anticuerpos anti-TWEAK o líquido sobrenadante de hibridoma a temperatura ambiente durante 2 h con agitación. Se lava una vez la placa recubierta con el Fn14 con tampón de lavado (Tween® 20 al 0,1% en PBS), se transfieren a cada hoyo 100 µl de la solución del

anticuerpo anti-TWEAK, se incuba la placa a temperatura ambiente durante 1 h y después se lava cuatro veces con tampón de lavado. Se llenan los hoyos con 100 µl de anticuerpo de detección anti-FLAG-HRP diluido 1:5000 en tampón de bloqueo y se incuban a temperatura ambiente durante 1 h. Se realizan cuatro
5 pasos más de lavado, se revelan las señales por adición de 100 µl de una solución de 3,3',5,5'-tetrametil-bencidina (TMB) durante aproximadamente diez minutos. Se interrumpe la reacción añadiendo 100 µl de HCl 1 N y se lee la absorbancia a 450 nm (longitud de onda de referencia: 620 nm). Los resultados se recogen en la tabla 6.

10 Ejemplo 5

Neutralización de la interacción TWEAK-Fn14 (ratón)

El ensayo ELISA de la interacción de la TWEAK murina/ Fn14 murina se realiza con arreglo a un principio similar al descrito para las proteínas humanas, pero empleando un sistema diferente de detección, ya que la TWEAK murina
15 soluble no se marca. Resumiendo, se recubren las placas Maxisorp con Fn14 murino:Fc (dominio extracelular de ratón Fn14 (aminoácidos 1-75) fusionado con la porción Fc de la IgG1 humana) del modo descrito previamente para el Fn14:Fc humano, se bloquean y se lavan. Se preincuba la TWEAK murina soluble a razón de 4 ng/ml con anticuerpos anti-TWEAK o el líquido sobrenadante de hibridoma
20 en tampón de bloqueo y se añaden 100 µl de la mezcla a cada hoyo de la placa recubierta con Fn14. Después de incubar a temperatura ambiente durante 1 h y lavar cuatro veces se añade el anticuerpo de la TWEAK anti-ratón biotinilado a razón de 125 ng/ml en tampón de bloqueo a temperatura ambiente durante 1 h y después se efectúan otros cuatro pasos de lavado. Se detecta el anticuerpo anti-
25 TWEAK por incubación con estreptavidina-HRP, diluida 1:5000 en tampón de bloqueo, a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se revela la señal y se lee la absorbancia del modo descrito antes. Los resultados se recogen en las tablas 6a y 6b.

Ejemplo 6

ELISA de la secreción de la IL-8

El bloqueo de la actividad de la TWEAK por los anticuerpos anti-TWEAK en un sistema celular se pone de manifiesto en un ensayo de secreción de la IL-8 empleando células de melanoma A375. Se siembran 10.000 células A375 (ATCC nº CRL1619) por hoyo en una placa de cultivo celular de 96 hoyos en 100 µl de medio de cultivo (DMEM con 4,5 g/l de glucosa, con piruvato y GlutaMAX™ /10% de FBS) y se incuban a 37°C/5% de CO₂ durante 48 h. Se preincuba la TWEAK humana recombinante soluble a razón de 300 ng/ml con diferentes concentraciones de anticuerpos anti-TWEAK en medio de cultivo a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después se añaden a cada hoyo de la placa de cultivo celular 50 µl de la mezcla y después se realiza otra incubación de 48 h para permitir la secreción de la IL-8. Se separan 20 µl del líquido sobrenadante del cultivo celular después de centrifugar la placa durante cinco minutos a 200 x g y se mezclan con 980 µl del diluyente llamado RD5P Calibrator Diluent del kit llamado “CXCL8 Quantikine ELISA” (R&D Systems). Se detecta la IL-8 mediante un ensayo ELISA con arreglo a las instrucciones del fabricante. Los resultados se recogen en las tablas 6a y 6b.

Tabla 6a

Anticuerpo		Inhibición de la interacción TWEAK-Fn14		secreción de IL-8 IC50 [ng/ml]
		TWEAK humana	TWEAK murina	
		IC50 [ng/ml]	IC50 [ng/ml]	
TW-301	conejo	3,4	4,7	128
TW-304	conejo	2,8	3,6	109
TW-305	conejo	2,5	3,3	99
TW-301chi	quimérico	2,8	6,4	121
TW-304chi	quimérico	2,6	4,4	122

(1)

TW-305chi	quimérico	2,6	4,9	104
-----------	-----------	-----	-----	-----

Tabla 6b

Anti- cuerpo	SEQ ID NO	Inhibición de la interacción		secreción de la IL8 [ng/ml]	Biacore t/2 dis. [min]			
		humano	murino		25°C	25°C	37°C	37°C
		IC50 [ng/ml]	IC50 [ng/ml]		humano	murino	humano	murino
27	27, 41	2,3	8,2	197	110	19	147	19
28	27, 44	1,5	6,5	165	87	19	115	17
29	27, 45	1,8	5,7	78	146	22	195	21
30	26, 47	2,3	7,6	207	50	17	45	15
31	29, 44	1,7	7,1	94	115	19	151	19
32	31, 45	1,5	5,4	134	67	17	50	20
33	29, 41	1,7	6,7	26	127	19	99	15
34	29, 39	1,9	5,9	24	158	22	185	20

Ejemplo 7

Determinación de la región de epítipo de TW-301, TW-304, TW-305

Se emplea un instrumento Biacore 2000 junto con el programa informático

5 Biacore Evaluation Software 4.0. El tampón de muestra y de sistema es el HBS-ET de pH 7,4. Debido a la fuerte fijación inespecífica del analito TWEAK sobre el epítipo de la superficie del sensor no se puede realizar el mapeo de los anticuerpos individuales con el ensayo habitual de competición cruzada Biacore, descrito por Johnne, B. y col., J. Immun. Meth. 160, 191-198, 1993.

10 Debido a las propiedades bioquímicas individuales de la proteína TWEAK se tiene que desarrollar otro método empleando la TWEAK como ligando. La TWEAK biotinilada se inmoviliza sobre la superficie de un chip recubierto con

estreptavidina y se mide el recubrimiento del epítoto con los anticuerpos inyectorados sucesivamente (anticuerpo 1). El objetivo es detectar los niveles relativos de fijación de un anticuerpo secundario (anticuerpo 2) en presencia de un anticuerpo primario fijado previamente. A partir de estos niveles relativos de fijación se calcula un cociente (Ab2/Ab1, proporción molar expresada en %, tabla 7).

Se inmovilizada la TWEAK biotinilada 5 nM a razón de 20 µl/min durante 1 min en una celdilla de flujo de sensor recubierta con estreptavidina. Se inyectan sucesivamente los anticuerpos (mAb) primario y secundario a razón de 10 µl/min durante 4 min en el sistema en una concentración en cada caso de 100 nM hasta lograr la saturación de los correspondientes epítotoes de la TWEAK. Como referencia se emplea una celdilla de flujo recubierta con SA.

Se lava el sistema con HBS-ET durante 20 s a razón de 30 µl/min y después se efectúan dos pasos de regeneración de 1 min a razón de 30 µl/min GuadHCl 6 M y HCl 100 mM. Estos pasos de regeneración arrancan los mAbs fijados de la superficie del sensor y se desnaturaliza de modo irreversible la TWEAK biotinilada inmovilizada. Se repite el proceso con la inmovilización de proteína TWEAK nativa biotinilada (alimentada de modo discontinuo) en la misma celdilla de flujo hasta que la superficie del sensor de estreptavidina quede totalmente saturada de la TWEAK biotinilada.

Tabla 7

MR %	Anticuerpo 2		
Anticuerpo 1	TW-301chi	TW-304chi	TW-305chi
TW-301chi	0	6	9
TW-304chi	0	0	3
TW-305chi	0	1	0

El ensayo de bloqueo cruzad indica que los valores de accesibilidad de los anticuerpos en cuestión son inferiores al 10 %, lo cual está dentro de los valo-

res de ruido de fondo de este ensayo. Se pone claramente de manifiesto que la TW-301chi, TW-304chi y TW-305chi se fijan sobre la misma región de epítope.

Ejemplo 8

Inhibición "in vivo" de la artritis inducida con colágeno (modelo murino de la artritis reumatoide) - El anticuerpo 305 (quimérico; TW305) inhibe la artritis inducida con colágeno, un modelo de la artritis reumatoide

Se inmunizan razones macho DBA1/J (Jackson Laboratory, Bal Harbor, Maine), de 6 a 8 semanas de edad, con colágeno bovino de tipo II en adyuvante de Freund completo y 3 semanas después en adyuvante de Freund incompleto (dosis inicial, día 0). Se administra a los ratones el anticuerpo quimérico 305 (= TW305, ver figura 1) (10 mg/kg, n = 12), Enbrel (10 mg/kg, n = 12) o vehículo (solución salina tamponada con fosfato, n = 12) en días alternos, empezando el día antes de la dosis inicial. Se examinan los ratones para determinar si sufren artritis los días 0, 2, 5, 7, 9, 12 y 14 después de la dosis inicial. Se evalúa la severidad de la artritis con arreglo a la puntuación siguiente: 1 = hinchamiento y/o rojez de un dedo; 2 = hinchamiento de dos o más articulaciones; 3 = hinchamiento abultado de la pata con más de dos articulaciones afectadas; 4 = artritis severa de toda la pata y dedos. Si se compara con el vehículo, el TW-305 reduce significativamente la puntuación clínica ($p < 0,05$, día 14), en una magnitud similar a la del Enbrel, bloqueador del TNF. Los resultados se recogen en la figura 1.

REIVINDICACIONES

1. Variante quimérica, humanizada o reducida del epítotope de las células T de un anticuerpo que contiene un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 17 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 21.

2. Anticuerpo que se fija sobre la TWEAK humana, caracterizado porque contiene una CDR1H de SEQ ID NO: 22, una CDR2H de SEQ ID NO: 23, una CDR3H de SEQ ID NO: 24 y una CDR1L de SEQ ID NO: 18, una CDR2L de SEQ ID NO: 19, una CDR3L de SEQ ID NO: 20.

3. Anticuerpo según la reivindicación 2, caracterizado porque contiene

- a) un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 27 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 41,
- b) un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 27 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 44,
- c) un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 27 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 45,
- d) un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 26 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 47,
- e) un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 29 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 44,
- f) un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 31 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 45,
- g) un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 29 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 41, o
- h) un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 29 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 39.

4. Anticuerpo según la reivindicación 2, caracterizado porque contiene
- a) un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 27 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 41,
 - b) un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 27 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 45,
 - c) un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 29 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 44,
 - d) un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 29 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 41, o
 - e) un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 29 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 39.

5. Anticuerpo según la reivindicación 2, caracterizado por una combinación de una secuencia variable de cadena ligera/ secuencia variable de cadena pesada elegida entre el grupo formado por las SEQ ID NO: 17/SEQ ID NO: 21, 25/37, 26/38, 27/39, 28/40, 29/41, 30/42, 31/43, 32/44; 33/45, 34/46, 35/47, 36/48.

6. Composición farmacéutica caracterizada porque contiene un anticuerpo según las reivindicaciones de 1 a 5 en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

7. Ácido nucleico que codifica a un anticuerpo según las reivindicaciones de 1 a 5.

8. Vectores de expresión caracterizados porque comprenden un ácido nucleico según la reivindicación 9 para la expresión de un anticuerpo que se fija sobre la TWEAK en una célula hospedante procariota o eucariota.

9. Célula hospedante procariota o eucariota que contiene un vector según la reivindicación 10.

10. Método para la producción de un anticuerpo recombinante según las reivindicaciones de 1 a 5, caracterizado por:

a) expresar un ácido nucleico según la reivindicación 9 en una célula hospedante procariota o eucariota, y

b) recuperar dicho anticuerpo de dicha célula o del líquido sobrenadante del cultivo celular.