

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-078100- -00000-0000

Fecha: 2007-07-31 16:20:57
Tra 11 PATENTEYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACIONE
Eve: 379 FASENACIONALI
Folios: 186

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

Ag 3/2007

①

SOLICITUD DE:



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I.



Capítulo II.

②

SOLICITANTE
(71)

Nombre: **F. HOFFMANN-LA ROCHE AG**

Dirección: Grenzacherstrasse 124, CH-4070
Basilea, Suiza.

Nacionalidad o Domicilio: Basilea, Suiza

Lugar de Constitución: Suiza

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Cual _____

Número _____

③

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º,
Bogotá- Colombia

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

C.C. ☒

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Cual _____

Número 39.690.713 TP 53.215

④

INVENTOR(ES)
(72)

Nombre: ENDL, Josef; FUENTES, Maria; GRAUS, Yvo; GROSSMANN, Adelbert; NEUMANN, Sebastian; PARREN, Paul; REBERS, Frank; REGULA, Joerg; SCHUMACHER, Ralf; SEEBER, Stefan; STRACKE, Jan; STUBENRAUCH, Kay-Gunnar; VAN DE WINKEL, Jan; VAN VUGT, Martine y VERECKEN-VERPLOEGEN, Sandra.

Dirección: Ulmenstrasse 12, 82362 Weilheim; 1490 Bittern Drive, Sunnyvale, California 94087; Werdorperwaard 3, NL-3984 PR Odijk; Heimgartenstrasse 1, 82436 Eglfing; Eisvogelstrasse 25, 82362 Weilheim; Werdorperwaard 17, NL-3984 PR Odijk; Adriaan Menninckkwartier 34, NL-3554 CT Utrecht; Lierstrasse 15, 80639 Muenchen; Hochfeldstrasse 78, 82377 Penzberg; Saalanger 34, 82377 Penzberg; Bruneckerstrasse 7, 81373 Muenchen; An der Freiheit 105, 82377 Penzberg; Verlengde Slotlaan 80, NL-3707 CK Zeist; Fluweelmos 6, NL-3994 KR Houten y Hesselaan 19, NL-3431-CD Nieuwegein.

Nacionalidad o Domicilio: Alemania, Estados Unidos de América y Holanda.

⑤

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/000005

Fecha: 02/01/06

Publicación Internacional No. WO2006/072564 A1

Fecha: 13/07/06

⑥

Título (54) ANTICUERPOS FRENTE AL RECEPTOR ALFA-1 DE LA IL-13 Y USOS DE LOS MISMOS

⑦

Clasificación Internacional (51) C07K 16/28

⑧

Prioridad

SI ☒

NO ☐

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

EP

03-01-05

05000003.3

EP

03-02-05

05002229.2

⑨

Comprobante de Pago No. 07-48,444

Fecha: 19 de Junio de 2007

Equivalente US 7807158
US 20060263356

10

LANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Documento de Representación Legal.
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (resumen, descripción, reivindicaciones y dibujos)
- ☒ Copia del examen preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☒ Traducción del examen preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Reporte de Búsqueda Internacional con su traducción, Publicación con su traducción, documento de indicaciones relacionadas con microorganismos depositados u otro material biológico con su traducción y listado de secuencias.

11 FIGURA CARACTERISTICA:

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA:

C.C. 39.690.713 Usaquén

T.P. 53.215

22

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176039-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 48,444
FECHA : JUNIO 19 DE 2007

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-078100- -00000-0000

Fecha: 2007-07-31 16:20:57 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act: 411 PRESENTACION Folios: 186

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	55092633	19/06/2007	4,357,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	482,000.00
TOTAL :			\$ 482,000.00

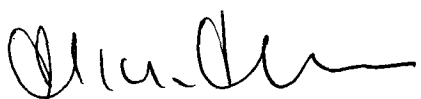
SON: CUATROCIENTOS OCHENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se esta presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.



ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215

TRADUCCION OFICIAL No.

de un documento escrito en Inglés, el cual para su identificación se sella con el sello de la traductora, lo mismo que la presente.-

Traducción de la apostilla en inglés que se encuentra a continuación de la legalización de las firmas de los señores Klausner y Strebel, representantes legales de F. Hoffmann-La Roche, que aparecen en un documento de Poder, escrito en español e inglés, conferido a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, expedida en idioma inglés por el notario Peter Kuster, bajo el No. 2004/20, el 17-08-2004, en Basilea, Suiza.

AUTENTICACION OFICIAL

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. País: Suiza

Este documento público

2. Ha sido firmado por el Lic. iur. Peter Kuster

3. Actuando en calidad de notario público

4. Lleva el sello del mencionado notario

Certificado

5. en Basel (Basilea)

6. el 18 de agosto 2004

7. por la Cancillería de Estado del Cantón de Basel-Stadt

8. bajo el No 8835/13376

9. Sello

10. Firma

Cancillería de Estado

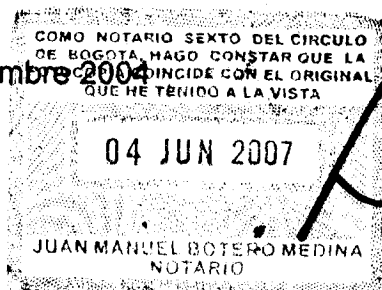
Fdo.: firma ilegible

de la ciudad de Basel (Basilea)

Ruedi Eggs

ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA, de la cual se deja copia en los archivos de estas oficinas para su confrontación.

Bogotá, 2 de septiembre 2004



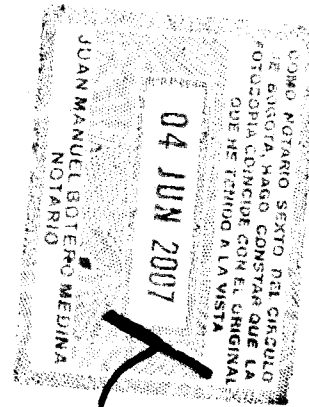
Maria Mercedes Uricechea T.
Maria Mercedes Uricechea T.
Traductora Juramentada
Resolución 10607/81 Minjusticia

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

258651
Mano Uncochea
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

2004 SET - 3 P 12: 12
MCS
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.



Los abajo firmados, **F.HOFFMANN-LA ROCHE AG**, una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de Suiza.

con domicilio en **4070 Basilea, Suiza**

nombramos por el presente a **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores **ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ**, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado

The undersigned, **F.HOFFMANN-LA ROCHE AG**, a corporation organized and existing under the laws of Switzerland.

domiciled at **4070 Basel, Switzerland**

hereby appoint, **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, of Bogota, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

Doctors **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize doctors **ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ**, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

JUAN MANUEL BOTEÑO MEDINA
Given and signed this 17th day of August 2008.

F. Hoffmann-La Roche AG

Fridolin Klausner
Holder of procuration

Denise Strebel
Mandatory

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

suiza
Basilea

{ss

Hoy 17 de Agosto de 2004, compareció Fridolin Klausner y Denise Strebel a quien conozco y de quien me consta que firmó el anterior documento, y quien debidamente juramentado declaró y dijo que él es titular del poder/mandatario

de F.HOFFMANN-LA ROCHE AG, la compañía nombrada en el documento que antecede, una sociedad debidamente organizada y existente conforme a las leyes de Suiza, domiciliada en la ciudad de Basilea, Suiza, legalmente constituida para un período de duración que aún no ha terminado, que ejerce su objeto social; conforme a las leyes de Suiza; que el declarante está autorizado por dicha Compañía para conferir este poder; que el sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre y en representación de la expresada Compañía, es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se confiere este instrumento está comprendido dentro del de la sociedad.

El suscrito Notario ha visto los Estatutos de incorporación firmados en Suiza, ciudad de Basilea, con fecha 19 Junio 1997, y certifica que de conformidad con la legislación de dicho País, la anterior declaración juramentada es prueba suficiente de que los hechos sobre que ella versa son ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

Notary Public (Notario Público).

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

Switzerland
Basel

{ss

On this 17th day of August, 2004, personally Fridolin Klausner and Denise Strebel came both Swiss citizens and Swiss residents, to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument, who being by me duly sworn did depose and say that he is the Holder of Procuration/Mandatory of F.HOFFMANN-LA ROCHE AG, the company named within, a Corporation organized and existing under the laws of the Switzerland, domiciled at the City of Basel, legally constituted for a period of tenure not yet expired, which exercises its corporate purposes according to the laws of Switzerland; that the deponent is authorized by said Company to confer this power of attorney; that the seal affixed hereunto by the deponent in the name and on behalf of said Corporation is the corporate seal thereof; and that the purpose for which this instrument is granted is included within the corporate purposes of the Company.

The undersigned Notary Public has seen the articles of Incorporation of said Corporation executed at Suiza, ciudad de Basel, under date of 19th day of June 1997, and hereby certifies that under the laws of said Country the foregoing acknowledgment is sufficient proof that the facts therein contained are true, which he attests.

Basel, this 17-08-2004 (seventeenth day of two thousand and four)

Dr. P. Kuster
Notary

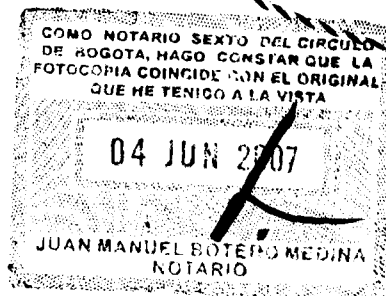
Dr. Peter Kuster
Advokat und Notar
Peterskirchplatz 12
Postfach
CH-4001 Basel

17.08.2004

2 Fr.

Dr. PETER KUSTER

Allg. Prot. No. 20



OFFICIAL AUTHENTICATION
(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz/Suisse)

This official document

2. is signed by *Dr. P. Kusch*

3. in his/her function as *Att. Moller*

4. and certified by the seal of the *Gmbs*

Certified **18. Aug. 2004**

5. in Basel (Bâle)

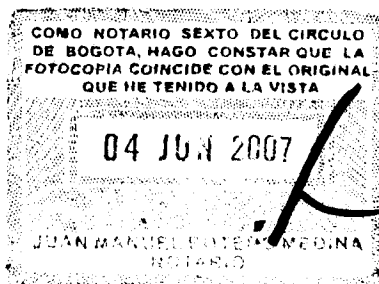
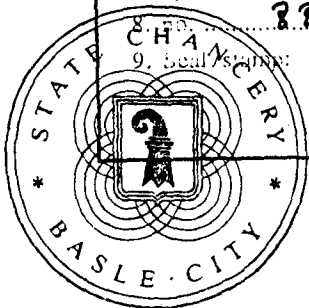
6. on

7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt

8. No. **8835 / 13 376**

9. Seal/Stamp:

10. Signature: *P*



REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/000005

A. CLASIFICACION DE MATERIA

INV. C07K16/28 A61K39/395 A61P11/06 A61P37/08 C12N15/13
C12N15/79 C12N15/70 C12N5/10 C12N5/20 C12N1/21

Según la Clasificación de Patentes Internacional (CPI) o según la clasificación nacional y la CPI

B. CAMPOS BUSCADOS

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de símbolos de clasificación)

CO7K A61K

Documentación buscada fuera de documentación mínima hasta donde dichos documentos se incluyan en los campos buscados

Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, donde sea práctico, buscar términos usados)

EPO-Interno, Dato WPI, EMBASE, BIOSIS, BUSQUEDA DE SECUENCIA

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
X	EP 1 449 851 A (MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD) 25 de agosto de 2004 (2004-08-25) páginas 13-14; [0076-0085] páginas 14-15; tabla 1 página 15; [0086] página 15; tabla 2 página 16-página 19; ejemplos 4, 7 página 20-página 22; ejemplos 9-11 página 20; tabla 8 página 23; [0111]	1-20
X	WO 03/080675 A2 (AMRAD OPERATIONS PTY LTD) 2 de octubre de 2003 (2003-10-02) citado en la solicitud página 6, línea 16- línea 30 ejemplos 5-9 figura 8 figura 10	1-20

☒ En el recuadro C se enumeran más documentos.

☒ En el anexo se enumeran miembros de la familia de patentes.

° Categorías especiales de documentos citados:

'A' documento que define el estado general de la técnica el cual no se considera de relevancia particular

'E' documento anterior pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional

'L' documento que puede arrojar dudas sobre reivindicaciones de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra citación u otra razón especial (según se especifica)

'O' documento que se refiere a una revelación oral, uso, exhibición u otros medios

'P' documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero después de la fecha de prioridad reivindicada

'T' documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o fecha de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud pero citado para entender el principio o teoría que sustenta la invención

'X' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se toma solo

'Y' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se combina con uno o más documentos, siendo dicha combinación obvia para una persona experta en la técnica

'&' documento miembro de la misma familia de patentes

Fecha de la terminación real de la búsqueda internacional

9 de Mayo de 2006

Fecha de envío por correo del reporte de búsqueda internacional

19/05/2006

Nombre y dirección de correo de ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk

Tel. No. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,

Fax No. (+31-70) 340-3016

Funcionario autorizado

Luyten, K

9

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/000005

C. (Continuación) DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
P,X	WO 2005/019266 A (AMGEN, INC; WILD, KENNETH, D; TREANOR, JAMES, J., S; HUANG, HAICHUN; I) 3 de marzo de 2005 (2005-03-03) secuencia 88 -----	14-16

10/10

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional No.
PCT/EP2006/000005

Casilla II Observaciones donde ciertas reivindicaciones fueron inescrutables (Continuación del Item 2 de la primera hoja)

Este reporte de búsqueda internacional no ha sido establecido respecto a ciertas reivindicaciones bajo el Artículo 17(2)(a) por las siguientes razones:

1. ☒ Reivindicaciones Nos.:
porque se relacionan con un asunto que no es necesario que esta Autoridad busque, a saber:
Aunque la reivindicaciones 18 está dirigida al método de tratamiento del cuerpo humano/animal (Artículo 52(4) EPC), la búsqueda ha sido llevada a cabo y basada en los efectos alegados del anticuerpo. .../...
2. ☐ Reivindicaciones Nos.:
porque se relacionan con partes de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos prescritos hasta tal grado que no se puede llevar a cabo una búsqueda internacional significativa, específicamente:
3. ☐ Reivindicaciones No.:
porque son reivindicaciones dependientes y no están diseñadas de acuerdo con la segunda y tercera oración de la Regla 6.4(a).

Casilla No. III Observaciones donde falta unidad de invención (Continuación del Item 3 de la primera hoja)

Esta Autoridad de Búsqueda Internacional encontró invenciones múltiples en esta solicitud internacional, así:

1. ☐ Puesto que todos los derechos de búsqueda adicionales requeridos fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre todas las reivindicaciones investigables.
2. ☐ Puesto que todas las reivindicaciones investigables pudieron investigarse sin esfuerzo que justifique derechos adicionales, esta Autoridad no solicitó pago de derechos adicionales.
3. ☐ Puesto que sólo algunos de los derechos de búsqueda adicionales fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre únicamente aquellas reivindicaciones para las cuales se pagaron derechos, específicamente las reivindicaciones Nos.:
4. ☐ El solicitante no pagó oportunamente los derechos de búsqueda adicionales requeridos. Por consiguiente, este informe de búsqueda internacional se restringe a la primera invención mencionada en las reivindicaciones; está cubierto por las reivindicaciones Nos.:

Comentario sobre Protesta ☐ Los derechos de búsqueda adicionales estuvieron acompañados por la protesta del solicitante.
☐ El pago de los derechos de búsqueda adicionales no estuvo acompañado por una protesta.

11

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL
Informe sobre miembros de familia de patentes

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/000005

Documento de patente citado en el reporte de búsqueda		Fecha de publicación		Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
EP 1449851	A	25-08-2004	AU	2002361122 A1	10-06-2003
			CA	2468950 A1	05-06-2003
			WO	03046009 A1	05-06-2003
			US	2005154192 A1	14-07-2005
WO 03080675	A2	02-10-2003	CA	2480059 A1	02-10-2003
			EP	1576013 A2	21-09-2005
			JP	2006504623 T	09-02-2006
			US	2005058645 A1	17-03-2005
WO 2005019266	A	03-03-2005	AU	2004267030 A1	03-03-2005
			EP	1648509 A2	26-04-2006

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2006/000005

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K16/28 A61K39/395 A61P11/06 A61P37/08 C12N15/13
C12N15/79 C12N15/70 C12N5/10 C12N5/20 C12N1/21

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, EMBASE, BIOSIS, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1 449 851 A (MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD) 25 August 2004 (2004-08-25) pages 13-14; [0076-0085] pages 14-15; table 1 page 15; [0086] page 15; table 2 page 16 - page 19; examples 4,7 page 20 - page 22; examples 9-11 page 20; table 8 page 23; [0111]	1-20
X	WO 03/080675 A2 (AMRAD OPERATIONS PTY LTD) 2 October 2003 (2003-10-02) cited in the application page 6, line 16 - line 30 examples 5-9 figure 8 figure 10	1-20
-/--		

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 May 2006

Date of mailing of the international search report

19/05/2006

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Luyten, K

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2006/000005

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	WO 2005/019266 A (AMGEN, INC; WILD, KENNETH, D; TREANOR, JAMES, J., S; HUANG, HAICHUN; I) 3 March 2005 (2005-03-03) sequence 88 -----	14-16

13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2006/000005

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claim 18 is directed to a method of treatment of the human/animal body (Article 52(4) EPC), the search has been carried out and based on the alleged effects of the antibody.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

18
15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2006/000005

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
EP 1449851	A	25-08-2004	AU	2002361122 A1	10-06-2003
			CA	2468950 A1	05-06-2003
			WO	03046009 A1	05-06-2003
			US	2005154192 A1	14-07-2005
WO 03080675	A2	02-10-2003	CA	2480059 A1	02-10-2003
			EP	1576013 A2	21-09-2005
			JP	2006504623 T	09-02-2006
			US	2005058645 A1	17-03-2005
WO 2005019266	A	03-03-2005	AU	2004267030 A1	03-03-2005
			EP	1648509 A2	26-04-2006

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA SEGÚN EL TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación

13 de Julio de 2006 (13.07.2006)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional

WO 2006/072564 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:

C07K 16/28 (2006.01) C12N 15/79 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) C12N 15/70 (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01) C12N 5/10 (2006.01)
A61P 37/08 (2006.01) C12N 5/20 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01) C12N 1/21 (2006.01)

(74) Agente: SCHREINER, Siegfried; Roche Diagnostics GmbH,
Patent Department (TR-E), Postfach 11 52, 82372 Penzberg (DE).

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

(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/EP2006/000005

(22) Fecha de Registro Internacional: 2 de Enero de 2006
(02.01.2006)

(25) Idioma de registro: INGLES

(26) Idioma de Publicación: INGLES

(30) Información de Prioridad:

05000003.3 3 de Enero de 2005 (03.01.2005) EP
05002229.2 3 de Febrero de 2005 (03.02.2005) EP

(71) Solicitante: (para todos los estados designados excepto Estados Unidos): F. HOFFMANN-LA ROCHE AG [CH/CH]; Grenzacherstrasse 124, CH-4070 Basel (CH).

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

Declaración bajo la Regla 4.17:

- relativo a la calidad de inventor (Regla 4.17 (iv))

(72) Inventores: e

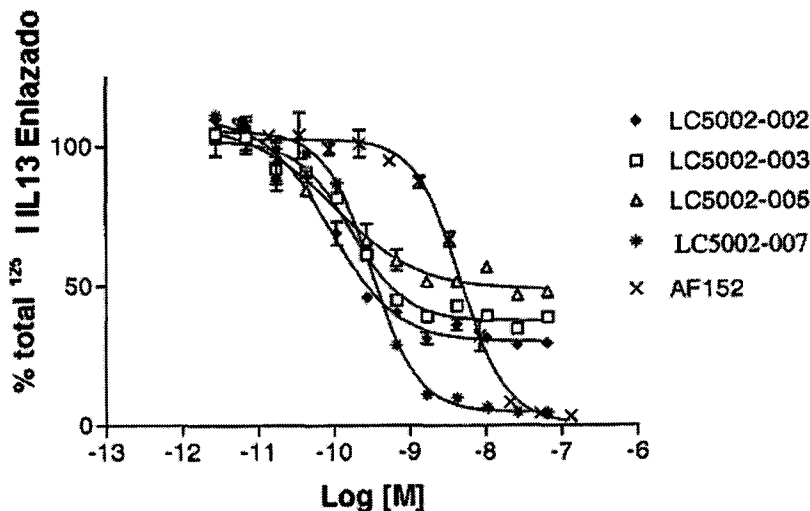
(75) Inventores/solicitantes (para Estados Unidos únicamente): ENDL, Josef [DE/DE]; Ulmenstrasse 12, 82362 Weilheim (DE). FUENTES, Maria [US/US]; 1413 South Mary Ave., Sunnyvale, CA 94087 (US). GRAUS, Yvo [NL/NL]; Werdorperwaard 3, NL-3984 PR Odijk (NL). GROSSMANN, Adelbert [DE/DE]; Heimgartenstrasse 1, 82436 Eglfing (DE). NEUMANN, Sebastian [DE/DE]; Eisvogelstrasse 25, 82362 Weilheim (DE). PARREN, Paul [NL/NL]; Werdorperwaard 17, NL-3984 PR Odijk (NL). REBERS, Frank [NL/NL]; Adriaan Menninckkwartier 34, NL-3554 CT Utrecht (NL). REGULA, Joerg [DE/DE]; Lierstrasse 15, 80639 Muenchen (DE). SCHUMACHER, Ralf [DE/DE]; Hochfeldstrasse 78, 82377 Penzberg (DE). SEEBER, Stefan [DE/DE]; Breunetsrieder Weg 22, 82377 Penzberg (DE). STRACHE, Jan [DE/DE]; Seeshaupter Strasse 18b, 82377 Penzberg (DE). STUBENRAUCH, Kay-Gunnar [DE/DE]; An der Freiheit 105, 82377 Penzberg (DE). VAN DE WINKEL, Jan [NL/NL]; Verlengde Slotlaan 80, NL-3707 CK Zeist (NL). VAN VUGT, Martine [NL/NL]; Fluweelmos 6, NL-3994 KR Houten (NL). VERECKEN-VERPLOEGEN, Sandra [NL/NL]; Hesselaan 19, NL-3431 CD Nieuwegein (NL).

Publicado:

-- con reporte de búsqueda internacional
-- antes de la expiración del límite de tiempo para modificar las reivindicaciones y ser publicada de nuevo en el caso de recibo de modificaciones.
-- Con una(s) indicación(es) con relación al deposito de material biológico suministrado bajo la Regla 13 bis separadamente de la descripción.

Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, refiérase a "Las Notas Guías sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada emisión regular de la Gaceta PCT.

(54) Título: ANTICUERPOS FRENTE AL RECEPTOR ALFA-1 DE LA IL-13 Y USOS DE LOS MISMOS



(57) Resumen: Un anticuerpo que se enlaza a IL-13 α 1, que inhibe la bioactividad de IL-3 y que comprende una cadena pesada variable y una ligera variable, caracterizada porque la secuencia de aminoácidos CDR3 de la cadena pesada variable de dicho anticuerpo se selecciona a partir del grupo consistente en las secuencias de cadena pesada CR3 de SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7 o 9, es útil en el tratamiento del asma y enfermedades alérgicas.

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
13 July 2006 (13.07.2006)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2006/072564 A1

(51) International Patent Classification:

C07K 16/28 (2006.01) C12N 15/79 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) C12N 15/70 (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01) C12N 5/10 (2006.01)
A61P 37/08 (2006.01) C12N 5/20 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01) C12N 1/21 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/EP2006/000005

(22) International Filing Date: 2 January 2006 (02.01.2006)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

05000003.3 3 January 2005 (03.01.2005) EP
05002229.2 3 February 2005 (03.02.2005) EP

(71) Applicant (for all designated States except US): **F.HOFF-MANN-La ROCHE AG** [CH/CH]; Grenzacherstrasse 124, CH-4070 Basel (CH).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **ENDL, Josef** [DE/DE]; Ulmenstrasse 12, 82362 Weilheim (DE). **FUENTES, Maria** [US/US]; 1413 South Mary Ave., Sunnyvale, CA 94087 (US). **GRAUS, Yvo** [NL/NL]; Werdorperwaard 3, NL-3984 PR Odijk (NL). **GROSSMANN, Adelbert** [DE/DE]; Heimgartenstrasse 1, 82436 Egfling (DE). **NEUMANN, Sebastian** [DE/DE]; Eisvogelstrasse 25, 82362 Weilheim (DE). **PARREN, Paul** [NL/NL]; Werdorperwaard 17, NL-3984 PR Odijk (NL). **REBERS,**

Frank [NL/NL]; Adriaan Menninckwartier 34, NL-3554 CT Utrecht (NL). **REGULA, Joerg** [DE/DE]; Lierstrasse 15, 80639 Muenchen (DE). **SCHUMACHER, Ralf** [DE/DE]; Hochfeldstrasse 78, 82377 Penzberg (DE). **SEEBER, Stefan** [DE/DE]; Breunetsrieder Weg 22, 82377 Penzberg (DE). **STRACKE, Jan** [DE/DE]; Seeshaupter Strasse 18b, 82377 Penzberg (DE). **STUBEN-RAUCH, Kay-Gunnar** [DE/DE]; An der Freiheit 105, 82377 Penzberg (DE). **VAN DE WINKEL, Jan** [NL/NL]; Verlengde Slotlaan 80, NL-3707 CK Zeist (NL). **VAN VUGT, Martine** [NL/NL]; Fluweelmos 6, NL-3994 KR Houten (NL). **VERECKEN-VERPLOEGEN, Sandra** [NL/NL]; Hesselaan 19, NL-3431 CD Nieuwegein (NL).

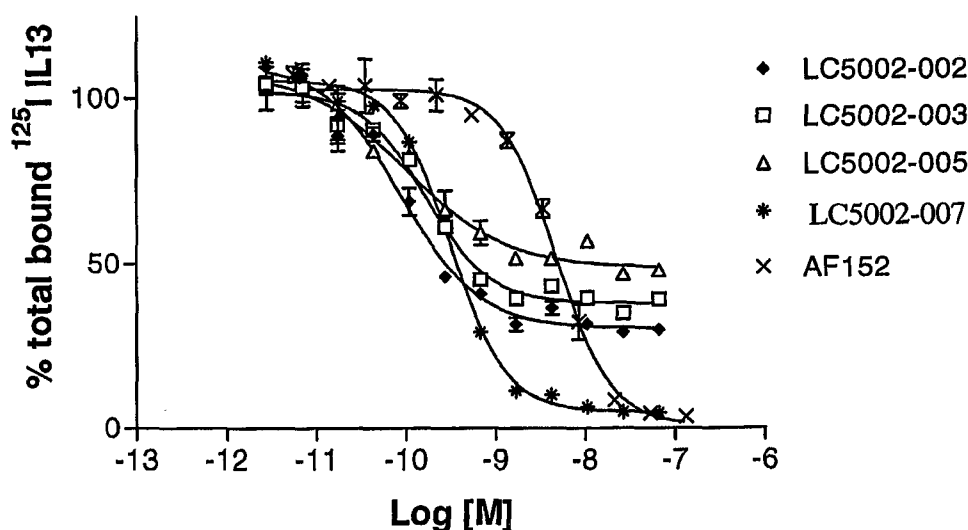
(74) Agent: **SCHREINER, Siegfried**; Roche Diagnostics GmbH, Patent Department (TR-E), Postfach 11 52, 82372 Penzberg (DE).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,

[Continued on next page]

(54) Title: ANTIBODIES AGAINST IL-13 RECEPTOR ALPHA 1 AND USES THEREOF



(57) Abstract: An antibody binding to IL-13R α 1, inhibiting IL-13 bioactivity and comprising a variable heavy and a variable light chain, characterized in that the variable heavy chain amino acid sequence CDR3 of said antibody is selected from the group consisting of the heavy chain CDR3 sequences of SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7 or 9 is useful in the treatment of asthma and allergic diseases.



18

ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments
- with (an) indication(s) in relation to deposited biological material furnished under Rule 13bis separately from the description

Declaration under Rule 4.17:

- of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

- with international search report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

19

PCT/EP2006/00005

Referencia del archivo del solicitante o agente 22922 WO-SR	Solicitud internacional No. PCT/EP2006/00005
---	--

INDICACIONES RELACIONADAS CON MICROORGANISMOS U OTRO MATERIAL BIOLÓGICO DEPOSITADO
(Regla PCT 13bis)

A. Las indicaciones hechas a continuación se relacionan con microorganismos u otro material biológico depositado referido en la descripción en la página 6, línea 11 – 16	
B. IDENTIFICACION DEL DEPOSITO	
Los depósitos adicionales se identifican en una hoja adicional ☐	
Nombre de la Institución depositaria Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ)	
Dirección de la institución depositaria (incluyendo código postal y país) Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig Alemania	
Fecha del depósito 13.01.2005	Número de Acceso DSM ACC2709 +
C. INDICACIONES ADICIONALES (dejar en blanco si no aplica)	
Esta información continúa en una hoja adicional ☒	
Indicaciones relacionadas con la Solución Experta con respecto al material biológico depositado DSM ACC2709, DSM ACC2710, DSM ACC22711 y DSM ACC 2712	
D. ESTADOS DESIGNADOS PARA LOS CUALES SE HACEN LAS INDICACIONES (si las indicaciones no son para todos los estados designados)	
CA (Canadá), EP (Patente Europea), SG (Singapur)	
E. SUMINISTRO SEPARADO DE INDICACIONES (dejar en blanco si no aplica)	
Las indicaciones enumeradas a continuación serán presentadas al Buró Internacional después (especificar la naturaleza general de las indicaciones, v.g., "Número de Acceso de Depósito")	
Para uso de la Oficina receptora solamente	Para uso del buró Internacional solamente
☐ Esta hoja fue recibida con la solicitud internacional	☒ Esta hoja fue recibida por el Buró Internacional el: 27 de febrero de 2006
Funcionario autorizado	Funcionario autorizado (firma ilegible) M. FOURNE-GODBERSEN

C. INDICACIONES ADICIONALES (hoja adicional)

Solicitantes : F. Hoffmann-La Roche AG, et al
Referencia del archivo de los solicitantes : 22922 WO-SR
Solicitud internacional No. : PCT/EP/2005/000005

Indicaciones Relacionadas con la Solución del Experto Respecto al Material Biológico Depositado a que se hace Referencia en la Descripción

Las indicaciones relacionadas con el material biológico depositado están todas contenidas en la descripción.

No se requiere que las siguientes indicaciones adicionales sean parte de la descripción y deben tratarse como "indicaciones separadas". Únicamente se relacionan con la solución del experto.

Las indicaciones adicionales que se hacen a continuación se relacionan con el material biológico depositado al que se hace referencia como:

hu-MAB<h-IL-13R alpha>LC.5002-002	DSM ACC2709
hu-MAB<h-IL-13R alpha>LC.5002-003	DSM ACC2710
hu-MAB<h-IL-13R alpha>LC.5002-005	DSM ACC2711
hu-MAB<h-IL-13R alpha>LC.5002-007	DSM ACC2712

en la descripción en la página 6.

Las indicaciones adicionales son:

Para la designación de CA (Canadá):

Respecto de la designación de Canadá, muestras del material biológico depositado estarán disponibles hasta el otorgamiento de la patente de Canadá, o hasta la fecha en la cual se rechace la solicitud, o sea abandonada y ya no sea objeto de restitución, o sea retirada, según lo disponen las Reglas 107 y 108 de las Reglas de Patentes bajo la Ley de Patentes de Canadá, únicamente por la expedición de una muestra a un experto independiente nominado por el Comisionado (Regla 104(4)).

Para la designación de la EP (Patente Europea):

Respecto de la designación de la EPO, muestras del material biológico depositado estarán disponibles hasta la publicación de la mención del otorgamiento de la patente Europea, o hasta 20 años desde la fecha de presentación si la solicitud es rechazada o retirada o se considera que ha sido retirada, según lo dispone la Regla 28(3) de las Regulaciones de Implementación bajo la EPC, únicamente por la expedición de una muestra a un experto nominado por quien solicita (Regla 28(4) EPC).

Para la designación de SG (Singapur):

Por el presente los solicitantes notifican sobre nuestra intención de que muestras del cultivo anteriormente identificado estarán disponibles únicamente a los expertos de conformidad con el párrafo 3 del Anexo Cuarto a las Reglas de Patentes de 1995.

Applicant's or agent's file reference 22922 WO-SR	International application No. PCT/EP2006/000005
--	--

**INDICATIONS RELATING TO DEPOSITED MICROORGANISM
OR OTHER BIOLOGICAL MATERIAL**

(PCT Rule 13bis)

A. The indications made below relate to the deposited microorganism or other biological material referred to in the description, on page 6, line 11 - 16	
B. IDENTIFICATION OF DEPOSIT Further deposits are identified on an additional sheet ☐	
Name of depositary institution Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ)	
Address of depositary institution (including postal code and country) Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig Germany	
Date of deposit 13.01.2005	Accession Number DSM ACC2709 +
C. ADDITIONAL INDICATIONS (leave blank if not applicable) This information is continued on an additional sheet ☒	
Indications relating to the Expert Solution in respect of the deposited biological material DSM ACC2709, DSM ACC2710, DSM ACC22711 and DSM ACC 2712	
D. DESIGNATED STATES FOR WHICH INDICATIONS ARE MADE (if the indications are not for all designated States) CA (Canada), EP (European Patent), SG (Singapore)	
E. SEPARATE FURNISHING OF INDICATIONS (leave blank if not applicable) The indications listed below will be submitted to the International Bureau later (specify the general nature of the indications e.g., "Accession Number of Deposit")	
For receiving Office use only ☐ This sheet was received with the international application Authorized officer	For International Bureau use only ☒ This sheet was received by the International Bureau on: 27 FEB 2006 Authorized officer M. FOURNE-GODBERSEN

22

C. ADDITIONAL INDICATIONS (additional sheet)

Applicants : F. Hoffmann-La Roche AG, et a
Applicants file reference : 22922 WO-SR
International application No. : PCT/EP2006/000005

**Indications Relating to the Expert Solution in Respect of Deposited Biological Material
Referred to in the Description**

The indications relating to deposited biological material are all contained in the description. The following additional indications are not required to be part of the description and should be treated as "separate indications." They relate only to the expert solution.

The additional indications made below relate to the deposited biological material referred to as:

hu-MAB<h-IL-13R alpha>LC.5002-002	DSM ACC2709
hu-MAB<h-IL-13Ralpha>LC.5002-003	DSM ACC2710
hu-MAB<h-IL-13Ralpha>LC.5002-005	DSM ACC2711
hu-MAB<h-IL-13R alpha>LC.5002-007	DSM ACC2712

in the description on page 6.

The additional indications are:

For CA (Canada) designation:

In respect of the designation of Canada, samples of the deposited biological material will be made available until the grant of the Canadian patent, or until the date on which the application is refused, or is abandoned and no longer subject to reinstatement, or is withdrawn, as provided in Rules 107 and 108 of the Patent Rules under the Canadian Patent Act, only by the issue of a sample to an independent expert nominated by the Commissioner (Rule 104(4))

For EP (European Patent) designation:

In respect of the designation of the EPO, samples of the deposited biological material will be made available until the publication of the mention of the grant of the European patent, or until 20 years from the date of filing if the application is refused or withdrawn or is deemed to be withdrawn, as provided in Rule 28(3) of the Implementing Regulations under the EPC, only by the issue of a sample to an expert nominated by requester (Rule 28(4) EPC).

For SG (Singapore) designation:

Applicants hereby give notice of our intention that samples of the above-identified culture shall be available only to experts in accordance with paragraph 3 of the Fourth Schedule to the Patents Rules 1995.

25

23

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES
PCT

REPORTE PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD

(Capítulo II del Tratado de Cooperación de Patentes)
(PCT Artículo 36 v Regla 70)

Registro de referencia del solicitante o agente 22922 WO-SR	PARA FUTURAS ACCIONES Ver Forma PCT/IPEA/416																																	
Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/000005	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 02.01.2006	Fecha de prioridad (día/mes/año) 03.01.2005																																
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC INV. C07K16/28 A61K39/395 A61P11/06 A61P37/08 C12N15/13 C12N15/79 C12N15/70 C12N5/10 C12N5/20 C12N1/21																																		
Solicitante F. HOFFMANN-LA ROCHE AG et al.																																		
1. Este reporte es el reporte de examen preliminar internacional, establecido por esta Autoridad Examinadora Preliminar Internacional bajo el Artículo 35 y transmitido al solicitante de conformidad con el Artículo 36. 2. Este REPORTE consta de un total de <u>9</u> hojas, incluyendo esta carátula. 3. Este reporte también es acompañado por ANEXOS, que comprenden: a. ☒ (enviado al solicitante y a la Oficina Internacional) un total de <u>3</u> hojas, como sigue: ☒ hojas de la descripción, reivindicaciones y/o dibujos los cuales han sido modificados y son la base de este reporte y/o hojas que contienen rectificaciones autorizadas por esta Autoridad (ver Regla 70.16 y Sección 607 de las Instrucciones Administrativas). ☐ hojas que reemplazan hojas anteriores, pero las cuales esta Autoridad considera que contienen una modificación que va más allá de la revelación en la solicitud internacional como se presentó, como se indicó en el ítem 4 de la Casilla No. I y la Casilla Suplementaria. b. ☐ (enviado únicamente a la Oficina Internacional) un total de (indicar tipo y número de medio(s) electrónico(s)) _____, que contienen un listado de secuencias y/o tablas con ello, únicamente en una forma legible en computador, como se indicó en la Casilla Suplementaria Relacionada con el Listado de Secuencias (ver Sección 802 de las Instrucciones Administrativas).																																		
4. Este reporte contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems: <table style="width: 100%; border: none;"><tr><td style="width: 10%;">☒</td><td style="width: 20%;">Casilla No. I</td><td style="width: 60%;">Bases del Reporte</td><td style="width: 10%;"></td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. II</td><td>Prioridad</td><td></td></tr><tr><td>☒</td><td>Casilla No. III</td><td>No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial.</td><td></td></tr><tr><td>☐</td><td>Casilla No. IV</td><td>Falta de unidad de invención</td><td></td></tr><tr><td>☒</td><td>Casilla No. V</td><td>Afirmación razonada de conformidad con el Artículo 35(2) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación.</td><td></td></tr><tr><td>☒</td><td>Casilla No. VI</td><td>Ciertos documentos citados</td><td></td></tr><tr><td>☒</td><td>Casilla No. VII</td><td>Ciertos defectos en la solicitud internacional</td><td></td></tr><tr><td>☒</td><td>Casilla No. VIII</td><td>Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional</td><td></td></tr></table>			☒	Casilla No. I	Bases del Reporte		☐	Casilla No. II	Prioridad		☒	Casilla No. III	No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial.		☐	Casilla No. IV	Falta de unidad de invención		☒	Casilla No. V	Afirmación razonada de conformidad con el Artículo 35(2) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación.		☒	Casilla No. VI	Ciertos documentos citados		☒	Casilla No. VII	Ciertos defectos en la solicitud internacional		☒	Casilla No. VIII	Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional	
☒	Casilla No. I	Bases del Reporte																																
☐	Casilla No. II	Prioridad																																
☒	Casilla No. III	No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial.																																
☐	Casilla No. IV	Falta de unidad de invención																																
☒	Casilla No. V	Afirmación razonada de conformidad con el Artículo 35(2) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación.																																
☒	Casilla No. VI	Ciertos documentos citados																																
☒	Casilla No. VII	Ciertos defectos en la solicitud internacional																																
☒	Casilla No. VIII	Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional																																
Fecha de presentación de la demanda 15.07.2006	Fecha de terminación de este reporte 19.01.2007																																	
Nombre y dirección de correo de la IPEA European Patent Office-P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk-Pays Bas Tel. +31 70 340-2040 Tx. 31651 epo nl Fax. +31 70 340-3016	Funcionario autorizado Luyten, Kattie Teléfono No. +31 70 340-8924																																	

Forma PCT/IPEA/409 (portada) (Abril 2005)

24
24

**REPORTE PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE
PATENTABILIDAD**

Solicitud internacional No.
PCT/EP2006/000005

Casilla No. I Bases del reporte

1. Respecto al idioma, este reporte se basó en:

- ☒ La solicitud internacional en el idioma en el cual se presentó.
- ☐ Una traducción de la solicitud internacional al, que es el lenguaje de una traducción entregada para propósitos de:
- ☐ búsqueda internacional (según Reglas 12.3. y 23.1 (b)).
 - ☐ publicación de la solicitud internacional (según la Regla 12.4(a))
 - ☐ examen preliminar internacional (según las Reglas 55.2 (a) y/o 55.3(a)).

2. Respecto a los elementos* de la solicitud internacional este Reporte se basó en (hojas reemplazadas que has sido suministradas a la oficina receptora en respuesta a una invitación según Artículo 14, son referidas en este reporte como "originalmente presentadas" y no son anexadas a este reporte):

Descripción, páginas

1-46 como se presentaron originalmente

Listado de Secuencias parte de la descripción, páginas

1-10 como se presentaron originalmente

Reivindicaciones, números

1-20 recibida el 15.07.2006 con carta del 14.07.2006

Dibujos-hojas

1-3 como se presentaron originalmente

☒ la listado de secuencia y/o alguna tabla(s) - Ver Casilla Suplementaria relacionada al Listado de Secuencia

3. ☐ Las modificaciones resultaron en la cancelación de:

- ☐ la descripción, páginas
- ☐ las reivindicaciones, Nos.
- ☐ los dibujos, hojas/ figuras
- ☐ listado de secuencia (especificar)
- ☐ cualquier tabla(s) relacionadas con la serie de listados (especificar)

4. ☐ Este reporte ha sido establecido como si (alguno de) los anexos corregidos a este reporte y numerado antes no ha sido hecho, desde que ellos han sido considerados a través de la presentación original, como esta indicado en la casilla suplementaria (regla 70.2©)..

- ☐ la descripción, páginas
- ☐ las reivindicaciones, Nos.
- ☐ los dibujos, hojas/ figuras
- ☐ secuencia que enumera (especificar)
- ☐ algunas tabla(s) relatando secuencia numerada (especificar)

*si el Item 4 aplica, algunas o todas aquellas hojas pueden ser marcadas "reemplazadas"

28
25

Casilla No. III. No establecimiento de opinión respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial

1. Las cuestiones de si la invención reivindicada parece ser novedosa, involucrar nivel inventivo (ser no obvia) o ser industrialmente aplicable no han sido examinadas respecto a:

- ☐ toda la solicitud internacional
- ☒ las reivindicaciones Nos. 18 (aplicabilidad industrial)

porque:

- ☒ dicha solicitud internacional, o dichas reivindicaciones Nos. 18 se relaciona con la siguiente materia objeto las cuales no requieren examen preliminar internacional (*especifique*):

ver hoja separada

- ☐ la descripción, reivindicaciones o dibujos (*indique elementos particulares a continuación*) o dichas reivindicaciones Nos. son tan imprecisas que no pudo formarse una opinión significativa (*especifique*):
- ☐ las reivindicaciones o dichas reivindicaciones Nos. están sustentadas tan inadecuadamente por la descripción que no pudo formarse una opinión significativa.
- ☐ no se ha establecido un reporte de búsqueda internacional para dichas reivindicaciones Nos.
- ☐ Una opinión no puede ser dada sin la lista de secuencias; el solicitante no lo hizo en el tiempo límite prescrito:
- ☐ Proporciona una lista de secuencias que cumpla con el estándar provisto por el anexo C de las instrucciones administrativas, y dicha lista no estaba disponible para la autoridad de búsqueda internacional en una forma o manera no aceptable para esto.
- ☐ Proporciona una lista de secuencias en forma electrónica que cumpla con el estándar provisto por el anexo C de las instrucciones administrativas y dicha lista no estaba disponible para la autoridad de búsqueda internacional en una forma o manera no aceptable para esto.
- ☐ Paga el costo por el requerimiento de una lista de secuencias en respuesta a la invitación bajo las reglas 13ter.1(a) o (b)
- ☐ Una opinión valida no puede ser formada sin las tablas relacionadas a la lista de secuencias; el solicitante no proporcionó, en el tiempo prescrito, dichas tablas en forma electrónica que cumple con los requerimientos provistos por el anexo C-bis de las instrucciones administrativas y dicha lista no estaba disponible para la autoridad de búsqueda internacional en una forma o manera no aceptable para esto.
- ☐ las tablas relacionadas con el nucleótido y/o lista de secuencia aminoácida, si están en formato legible por computador únicamente, no cumplen con los requerimientos técnicos proporcionados en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.
- ☐ Ver la hoja separada para más detalles

Casilla No. V Afirmación razonada bajo el Artículo 35(2) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación

1. Afirmación

Novedad (N)	Si : Reivindicaciones	1-20
	No: Reivindicaciones	
Nivel Inventivo (IS)	Si : Reivindicaciones	
	No: Reivindicaciones	1-20
Aplicabilidad Industrial (IA)	Si : Reivindicaciones	1-17, 19-20
	No: Reivindicaciones	

2. Citaciones y explicaciones (Regla 70.7)

ver hoja separada

CASILLA No.VI Ciertos documentos citados

- Ciertos documentos publicados (Regla 70.10)
y/o
- Revelaciones en fonrma no escrita (Regla 70.9)

ver hoja separada

Casilla No. VII Algunos defectos en la solicitud internacional

Los siguientes defectos en la forma o contenido de la solicitud internacional han sido notados:

Ver hoja separada

Casilla No. VIII Algunas observaciones sobre la solicitud internacional

Los siguientes observaciones sobre la claridad de las reivindicaciones, la descripción, y los dibujos o acerca de la pregunta de si las reivindicaciones están totalmente soportadas por la descripción, fue formulada:

ver hoja separada

27
27

REPORTE DE EXAMEN PRELIMINAR
INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD
(HOJA SEPARADA)

Solicitud internacional No.
PCT/EP2006/000005

Casilla suplementaria relacionada con el listado de secuencia

Continuación de la casilla I Item 2:

1. Respecto a cualquier nucleótido y/o secuencia aminoácida revelada en la solicitud internacional y necesaria para la invención reivindicada, este reporte fue establecido según:

a. tipo de material:

- ☒ un listado de secuencia
☐ tabla(s) relacionada con el listado de secuencia

b. formato de material:

- ☒ en formato escrito
☒ en formato legible por computador

c. tiempo de presentación/suministro:

- ☒ contenido en la solicitud internacional según se registró.
☒ registrada junto con la solicitud internacional en formato legible por computador.
☐ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad para el propósito de la búsqueda y/o examinación.
☐ recibida por esta Autoridad como una enmienda* en

2. ☐ Además, en el caso en que más de una versión o copia de un listado de secuencia y/o tabla relacionada con ello se haya registrado o proporcionado, las declaraciones requeridas de que la información en las copias subsiguientes o adicionales es idéntica a aquella en la solicitud según se presentó o no va más allá de la solicitud según se registró, según lo apropiado, fueron suministradas.

3. Comentarios adicionales:

*si el Item 4 en la casilla No. I aplica, el listado y/o tabla(s) relacionados con ello, el cual forma parte de las bases del reporte, pueden ser marcadas "reemplazadas"

28

SECCION III

La reivindicación 18 se relaciona con la materia objeto considerada por esta autoridad como cubierta por las provisiones de la Regla 67.1 (iv) PCT. En consecuencia, no se formulará ninguna opinión con respecto a la aplicabilidad industrial de la materia objeto de esta reivindicación (Artículo 34(4)(a)(I) PCT).

SECCION V

1 TECNICA PREVIA

1.1 Se hace referencia a los siguientes documentos en este reporte:

D1: EP-A-1 449 851 (MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD) Agosto 25 de 2004

D2: WO 03/080675 A2 (AMRAD OPERATIONS PTY LTD) Octubre 2 de 2003, citado por el solicitante.

1.2 El documento D1 revela anticuerpos de rata que se enlazan a IL-13R alfa (páginas 13-15 [0076-0085] & Tabla 1), que inhiben la bioactividad de IL-13 (página 16-19; Ejemplos 4&7) y que tienen una afinidad en el rango de $0.15-4.1 \times 10^{-9}$ M (K_D) para enlace a IL-13R alfa 1 (página 15 [0086] & Tabla 2). De tres de estos anticuerpos (F997-10-1, F997-13-1 & F997-20-1) se identificaron las secuencias de CDR (Tabla 8) y se usaron para preparar anticuerpos quiméricos de rata/humano y anticuerpos humanizados mediante clonación y expresión recombinante (páginas 20-22: Ejemplos 9-11). Se confirmó que los anticuerpos quiméricos y humanizados tienen el mismo enlace a IL-13R alfa1 y la actividad de neutralización de IL-13 que los anticuerpos de rata originales. D1 sugiere que los anticuerpos anti-IL-13R alfa1 son efectivos para tratar enfermedades inflamatorias (página 23 [0111]).

1.3 El documento D2 revela un anticuerpo humanizado que se enlaza a IL-13R alfa1 (página 6, líneas 16-30; Ejemplo 6-9), el anticuerpo anti-IL-13R alfa 1D9 murino que inhibe la bioactividad de IL-13 (Ejemplo 5 y Figura 8), y las secuencias de sus dominios variables (Figura 10).

2 NOVEDAD (ART. 33(2) PCT)

29
29

- 2.1 El anticuerpo como en la reivindicación 1 difiere de los anticuerpos anti- IL-13R alfa1 revelados en los documentos D1 y D2 en que su secuencia de CDR3 es diferente. No se han encontrado anticuerpos en la técnica previa que tengan cualquiera de las secuencias de CDR3 como en la reivindicación 1. También, los hibridomas DSM ACC2709, DSM ACC2710, DSM ACC2711 y DMS ACC2712 no han sido revelados en la técnica previa. Así, las reivindicaciones 1-9 y 20 son novedosas.
- 2.2 La materia objeto de las reivindicaciones relacionadas con una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1-9 (reivindicación 11), una célula hospedera recombinante que produce un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1-9 (reivindicación 12), y el uso y métodos que involucran un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1-9 (reivindicaciones 10, 13 y 18-19), también es novedosa.
- 2.3 La técnica previa no revela una cadena pesada de anticuerpo de la cual las tres CDRs son seleccionadas de las CDRs de la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7 o 9, ni es una cadena ligera de anticuerpo revelada, de la cual las tres CDRs se seleccionan de las CDRs de la SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8 o 10. Por lo tanto, las reivindicaciones 14-17 son novedosas.
- 2.4 Como la materia objeto de las reivindicaciones 1-20 es nueva, la presente solicitud cumple los criterios del Artículo 33(2) PCT.
- 3 NIVEL INVENTIVO (ART. 33(3) PCT)
- 3.1 Se considera al documento D1 como la técnica previa más cercana a la materia objeto de las reivindicaciones 1-20.
- 3.2 Las Reivindicaciones 1-20 difieren del documento D1 en que el anticuerpo anti-IL-13 alfa 1 al que se relacionan, tiene una secuencia diferente.
- 3.3 Los anticuerpos de la presente solicitud tienen enlace y propiedades inhibitoras similares a las de los anticuerpos de D1, y así, no hay un efecto particular asociada con las diferencias sobre la técnica previa. El problema a ser resuelto por la presente invención puede por lo tanto, ser considerado como la provisión de un anticuerpo anti-IL13R alfa 1 alternativo.

30
30

- 3.4 Las Reivindicaciones 1-9 y 20 se relacionan con anticuerpos anti-IL13R alfa 1 que inhiben IL-13. Dichas reivindicaciones resuelven el problema planteado. Sin embargo, carecen de nivel inventivo porque las soluciones de las reivindicaciones 1-9 y 20 son simplemente soluciones arbitrarias que no muestran un efecto sorprendente. La provisión de dichas soluciones no requiere ninguna habilidad inventiva.
- 3.5 La composición farmacéutica (reivindicación 11), el ácido nucleico (reivindicación 14), el vector de expresión (reivindicación 15), la célula hospedera (reivindicaciones 12 y 16) y el uso/métodos para preparar un anticuerpo/composición farmacéutica/polipéptido (10, 13, 17 y 19) son simplemente productos y métodos estándar que no requieren una habilidad inventiva. Por lo tanto, las reivindicaciones 10-17 y 19 también carecen de nivel inventivo.
- 3.6 La reivindicación 18 que se relaciona con el uso médico de los presentes anticuerpos anti-IL13R alfa 1 tampoco es inventiva, porque el documento D1 ya sugiere el uso de anticuerpos anti-IL13R alfa 1 para el tratamiento del asma y enfermedades alérgicas (página 2 [0005-0006] y página 23 [0011]).
- 3.7 La presente solicitud no cumple los criterios del Artículo 33(1) PCT, porque la materia objeto de las reivindicaciones 1-20 no involucra un nivel inventivo en el sentido del Artículo 33(3) PCT.
4. Para la evaluación de las presente reivindicación 18 sobre la pregunta si es aplicable industrialmente, no existe un criterio unificado en los Estados Contratantes de PCT. La patentabilidad también puede depender de la formulación de las reivindicaciones. La EPO, por ejemplo, no reconoce como industrialmente aplicable la materia objeto de las reivindicaciones para el uso de un compuesto en el tratamiento médico, pero pueden permitir, sin embargo, reivindicaciones a un compuesto conocido para primer uso en tratamiento médico y el uso de dicho compuesto para la fabricación de un medicamento para un nuevo tratamiento médico.

SECCION VI

El examen se ha basado en el supuesto que la prioridad reivindicada es válida para todas las reivindicaciones. Sin embargo, si este no es el caso, entonces los siguientes documentos se volverían relevantes para las reivindicaciones 14-16:

31
31

WO 2005/019266 A (AMGEN, INC; Wild, Kenneth, D; Treanor, James, J.S.; Huang, Haichun; I) Marzo 3 de 2005 (2005-03-03).

SECCION VII

Como las reivindicaciones 7 y 20 se relacionan con material biológico depositado, se debe proporcionar un recibo de depósito emitido por la institución depositaria con el fin de cumplir con la Regla 28 EPC (ver los Lineamientos C-II 6.3), al entrar en la fase regional ante la EPO.

SECCION VIII

1 CLARIDAD

- 1.1. La expresión “capaz de ensamblarse junto con la otra cadena de anticuerpo respectiva definida a continuación” (reivindicación 14) es vaga, porque físicamente cualquier cadena pesada y ligera de anticuerpo se puede ensamblar, sin embargo, solo ciertas combinaciones conducirán a un anticuerpo con la especificidad deseada. En la reivindicación 14 no es claro cuales combinaciones de cadena pesada y ligera producirían un anticuerpo funcional y no se definen propiedades funcionales adicionales (enlace e inhibición) son definidas.

La expresión “en donde las CDRs se seleccionan independientemente entre sí” en la reivindicación 14 no es consistente con el resto de la reivindicación.

Así, la reivindicación 14 carece de claridad y en consecuencia, tampoco las reivindicaciones 15 a 17, que se refieren a la reivindicación 14 son claras.

- 1.2 Se nota que los términos “preferiblemente” (reivindicación 6) y “opcionalmente” (reivindicación 9) no afectan el alcance de una reivindicación.
- 1.3 La solicitud no cumple los requerimientos del artículo 6 PTC, porque las reivindicaciones 14-17 no son claras.

34

31
32

Adjunto a la carta de Julio 14, 2006
Solicitud internacional No. PCT/EP2006/000005
Solicitante: F. Hoffmann-La Roche AG
Referencia de la Solicitud: 22922 WO-SR

Nuevas Reivindicaciones de Patente

1. Un anticuerpo que se enlaza a IL-13Ra1 e inhibe IL-13, caracterizado por que la secuencia de amino ácido de cadena pesada variable CDR3 de dicho anticuerpo se selecciona del grupo que consiste de las secuencias CDR3 de cadena pesada de las ID de SEC N°: 1, 3, 5, 7 ó 9.

2. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque las secuencias de amino ácido de cadena pesada variable CDR1 y CDR2 de dicho anticuerpo se seleccionan del grupo que consiste de las secuencias CDR1 y CDR2 de ID de SEC N°: 1, 3, 5, 7 ó 9

3. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque las secuencias de aminoácido CDR1, CDR2 y CDR2 de cadena ligera variable de dicho anticuerpo se seleccionan del grupo que consiste en las secuencias de amino ácido de cadena ligera variable CDR1, CDR2 y CDR3 de ID de SEC N°: 2, 4, 6, 8 ó 10.

4. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 a 3, caracterizado porque comprende una cadena pesada y l humana que comprende

a) la secuencia de aminoácido Pro₂₃₃Val₂₃₄Ala₂₃₅ con eliminación de Gly₂₃₆ y/o la secuencia de aminoácido Gly₃₂₇Leu₃₂₈Pro₃₂₉Ser₃₃₀Ser₃₃₁,

b) la secuencia de aminoácido Ala₂₃₄Ala₂₃₅ o

c) los aminoácidos Ala₂₆₅ y Ala₂₉₇.

5. Un anticuerpo, de acuerdo con la reivindicación 1 a 4, caracterizado por ser un anticuerpo humano.

6. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 a 5, caracterizado por una afinidad de enlace (K_D) a IL-13R α 1 de 10^{-9} o menos, preferentemente de 10^{-9} a 10^{-13} .

7. Un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 6 obtenido a partir de la línea celular de hibridoma DSM ACC2709, DSM ACC2710, DSM ACC2711 o DSM ACC2712.

22922WO 060714 REIVINDICACIONES ENMENDADAS.Doc

8. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 a 7, caracterizado porque comprende como región variable de cadena pesada a la N° de ID SEC: 1 y como región variable de cadena ligera a la N° de SEC: 2, como región variable de cadena pesada a la N° de ID SEC: 3 y como región variable de cadena ligera a la N° de SEC: 4, como región variable de cadena pesada a la N° de ID SEC: 5 y como región variable de cadena ligera a la ID de SEC N°: 6, como región variable de cadena pesada a la ID de SEC N°: 7 y como región variable de la cadena ligera a la ID de SEC N°: 8 o como región variable de cadena pesada a la N° de ID SEC: 9 y como región variable de cadena ligera a la ID de SEC N°:10.

9. Un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 6 que contiene:

a) como región variable de cadena pesada la ID de SEC: 1, como región variable de cadena ligera la N° de ID SEC:2, como región constante de cadena ligera κ la ID de SEC N°: 11 y como región constante de cadena pesada γ 1 la ID de SEC N°: 12 opcionalmente con mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A,

b) como región variable de cadena pesada la ID de SEC N°: 3, como región variable de cadena ligera la ID de SEC N°:4, como región constante de cadena ligera κ la ID de SEC N°: 11 y como región constante de cadena pesada γ 1 la ID de SEC N°: 12 opcionalmente con mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A,

c) como región variable de cadena pesada la N° de ID SEC: 5, como región variable de cadena ligera la N° de ID de SEC:6, como región constante de cadena ligera κ la N° de ID de SEC: 11 y como región constante de cadena pesada γ 1 ID de SEC N°: 12 opcionalmente con mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A,

d) como región variable de cadena pesada la N° de ID SEC: 7, como región variable de cadena ligera la N° de ID de SEC:8, como región constante de cadena ligera κ la N° de ID de SEC: 11 y como región constante de cadena pesada γ 1 la ID de SEC N°: 12 opcionalmente con mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A, o

e) como región variable de cadena pesada la N° de ID SEC: 9, como región variable de cadena ligera la N° de ID de SEC:10, como región constante de cadena ligera κ la N° de ID de SEC: 11 y como región constante de cadena pesada γ 1 ID de SEC N°: 12 opcionalmente con mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A.

10. El uso de un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 9 para la fabricación de una composición farmacéutica.

11. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 9.

12. Una célula hospedera recombinante capaz de producir un anticuerpo recombinante de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 9.

13. Método para la producción de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 9.

14. Un ácido nucleico que codifica un polipéptido capaz de ensamblarse con la otra cadena descrita más abajo respectivamente, mientras que dicho polipéptido es cualquiera de:

- a) una cadena pesada de anticuerpo que comprende regiones variables de cadena pesada de las N° de ID de SEC: 1, 3, 5, 7 ó 9.
- b) una cadena ligera de anticuerpo que comprende las regiones variables de cadena ligera de las N° de ID SEC: 2, 4, 6, 8 ó 10

en donde las CDR son seleccionadas de forma independiente una de la otra.

15. Un vector de expresión que comprende un ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 14, capaz de expresar dicho ácido nucleico en una célula hospedera eucariota o procariota.

16. Una célula hospedera procariota o eucariota que comprende el vector de acuerdo con la reivindicación 15.

17. Un método para la producción de un polipéptido que se enlaza a IL-13R α 1 e inhibe el enlace de IL-13 a IL-13R α 1, caracterizado por expresar un ácido nucleico que codifica una cadena pesada y un ácido nucleico que codifica una cadena ligera de acuerdo con la reivindicación 14, en una célula hospedera procariota o eucariota y recuperar dicho polipéptido de dicha célula.

18. Método para el tratamiento de un paciente que requiera terapia para el asma o antialérgica, caracterizado por la administración al paciente de un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 9.

19. Método para la preparación de una composición farmacéutica caracterizado por producir un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 9 mediante expresión recombinante, recuperar dicho anticuerpo y combinar dicho anticuerpo con un amortiguador y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

20. La línea celular de hibridoma DSM ACC2709, DSM ACC2710, DSM ACC2711 o DSM ACC2712.

34

37

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 22922 WO-SR	FOR FURTHER ACTION		See Form PCT/PEA/416
International application No. PCT/EP2006/000005	International filing date (day/month/year) 02.01.2006	Priority date (day/month/year) 03.01.2005	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV. C07K16/28 A61K39/395 A61P11/06 A61P37/08 C12N15/13 C12N15/79 C12N15/70 C12N5/10 C12N5/20 C12N1/21			
Applicant F. HOFFMANN-LA ROCHE AG et al.			
1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of 9 sheets, including this cover sheet. 3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising: a. ☒ sent to the applicant and to the International Bureau a total of 3 sheets, as follows: ☒ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions). ☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box. b. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing and/or tables related thereto, in electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see Section 802 of the Administrative Instructions).			
4. This report contains indications relating to the following items: ☒ Box No. I Basis of the report ☐ Box No. II Priority ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability ☐ Box No. IV Lack of unity of invention ☒ Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement ☒ Box No. VI Certain documents cited ☒ Box No. VII Certain defects in the international application ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application			
Date of submission of the demand 15.07.2006		Date of completion of this report 19.01.2007	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016		Authorized officer Luyten, Kattie Telephone No. +31 70 340-8924 	

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/EP2006/000005

36

Box No. I Basis of the report

1. With regard to the **language**, this report is based on
- ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of:
 - ☐ international search (under Rules 12.3(a) and 23.1(b))
 - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4(a))
 - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2(a) and/or 55.3(a))
2. With regard to the **elements*** of the international application, this report is based on (*replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report*):

Description, Pages

1-46 as originally filed

Sequence listings part of the description, Pages

1-10 as originally filed

Claims, Numbers

1-20 received on 15.07.2006 with letter of 14.07.2006

Drawings, Sheets

1-3 as originally filed

- ☒ a sequence listing and/or any related table(s) - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing

3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages
- ☐ the claims, Nos.
- ☐ the drawings, sheets/figs
- ☐ the sequence listing (*specify*):
- ☐ any table(s) related to sequence listing (*specify*):

4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

- ☐ the description, pages
- ☐ the claims, Nos.
- ☐ the drawings, sheets/figs
- ☐ the sequence listing (*specify*):
- ☐ any table(s) related to sequence listing (*specify*):

* If item 4 applies, some or all of these sheets may be marked "superseded."

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY

International application No. **37**
PCT/EP2006/000005

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application,
☒ claims Nos. 18 (industrial applicability)

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 18 (industrial applicability) relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

see separate sheet

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):
- ☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*).
- ☐ no international search report has been established for the said claims Nos.
- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:
- ☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Preliminary Examining Authority in a form and manner acceptable to it.
- ☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Preliminary Examining Authority in a form and manner acceptable to it.
- ☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13~~ter~~.1(a) or (b) and 13~~ter~~.2.
- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-*bis* of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Preliminary Examining Authority in a form and manner acceptable to it.
- ☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-*bis* of the Administrative Instructions.
- ☐ See separate sheet for further details

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/EP2006/000005

28
38

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	1-20
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-20
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-17, 19-20
	No: Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rule 70.10)

and / or

2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

see separate sheet

Box No. VII Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/EP2006/000005

39
39

Supplemental Box relating to Sequence Listing

Continuation of Box I, item 2:

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this report was established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☒ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☒ on paper
 - ☒ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☒ contained in the international application as filed
 - ☒ filed together with the international application in electronic form
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search and/or examination
 - ☐ received by this Authority as an amendment* on
 2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table(s) relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
 3. Additional comments:
- * If item 4 in Box No. I applies, the listing and/or table(s) related thereto, which form part of the basis of the report, may be marked "superseded."

SECTION III

Claim 18 relates to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of this claim (Article 34(4)(a)(I) PCT).

SECTION V

1 PRIOR ART

1.1 The following documents are referred to in this report:

D1: EP-A-1 449 851 (MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD) 25 August 2004
D2: WO 03/080675 A2 (AMRAD OPERATIONS PTY LTD) 2 October 2003, cited by the applicant

1.2 Document D1 discloses rat antibodies binding to IL-13Ralpha1 (pages 13-15 [0076-0085] & Table 1), inhibiting IL-13 bioactivity (page 16-19: Examples 4 & 7) and having an affinity in the range of $0.15 - 4.1 \times 10^{-9}$ M (K_D) for binding to IL-13Ralpha1 (page 15 [0086] & Table 2). Of three of these antibodies (F997-10-1, F997-13-1 & F997-20-1) the CDR sequences were identified (Table 8) and used to prepare rat/human chimeric antibodies and humanized antibodies by means of recombinant cloning and expression (pages 20-22: Examples 9-11). The chimeric and humanized antibodies were confirmed to have the same IL-13Ralpha1 binding and IL-13 neutralization activity as the original rat antibodies. D1 suggests that the anti-IL-13Ralpha1 antibodies are effective to treat inflammatory diseases (page 23 [0111]).

1.3 Document D2 discloses a humanized antibody binding to IL-13Ralpha1 (page 6, lines 16-30; Examples 6-9), the murine anti-IL-13Ralpha1 antibody 1D9 which inhibits IL-13 bioactivity (Example 5 and Figure 8), and the sequences of their variable domains (Figure 10).

2 NOVELTY (Art. 33(2) PCT)

- 2.1 The antibody as in claim 1 differs from the anti-IL-13Ralpha1 antibodies disclosed in documents D1 and D2 in that its CDR3 sequence is different. No antibodies have been found in the prior art that have any of the CDR3 sequences as in claim 1. Also the hybridomas DSM ACC2709, DSM ACC2710, DSM ACC2711 and DSM ACC2712 have not been disclosed in the prior art. Thus, claims 1-9 and 20 are novel.
- 2.2 The subject-matter of the claims relating to a pharmaceutical composition comprising an antibody according to claims 1-9 (claim 11), a recombinant host cell producing an antibody according to claims 1-9 (claim 12) and the use and methods involving an antibody according to claims 1-9 (claims 10, 13 and 18-19), is also novel.
- 2.3 The prior art does not disclose an antibody heavy chain of which the three CDRs are selected from the CDRs of SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7 or 9, nor is an antibody light chain disclosed of which the three CDRs are selected from the CDRs of SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8 or 10. Therefore claims 14-17 are novel.
- 2.4 Since the subject-matter of claims 1-20 is new, the present application fulfils the criteria of Article 33(2) PCT.
- 3 INVENTIVE STEP (Art. 33(3) PCT)
- 3.1 Document D1 is regarded as being the closest prior art to the subject-matter of claims 1-20.
- 3.2 Claims 1-20 differ from document D1 in that the anti-IL-13Ralpha1 antibody they relate to has a different sequence.
- 3.3 The antibodies of the present application have similar binding and inhibitory properties as the antibodies of D1 and, thus, there is no particular effect associated with the differences over the prior art. The problem to be solved by the present invention may therefore be regarded as providing an alternative anti-IL-13Ralpha1 antibody.

- 3.4 Claims 1-9 and 20 relate to anti-IL-13Ralpha1 antibodies which inhibit IL-13. Said claims solve the problem posed. However, they lack an inventive step since the solutions as in claims 1-9 and 20 are merely arbitrary solutions which do not show a surprising effect. The provision of said solutions does not require any inventive skill.
- 3.5 The pharmaceutical composition (claim 11), the nucleic acid (claim 14), the expression vector (claim 15), the host cell (claims 12 and 16) and the use/methods for preparing an antibody/pharmaceutical composition/polypeptide (10, 13, 17 and 19) are merely standard products and methods which do not require an inventive skill. Therefore, also claims 10-17 and 19 lack an inventive step.
- 3.6 Claim 18 relating to the medical use of the present anti-IL-13Ralpha1 antibodies is also not inventive, because document D1 already suggests the use of anti-IL-13Ralpha1 antibodies for treating asthma and allergic diseases (page 2 [0005-0006] and page 23 [0111]).
- 3.7 The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 1-20 does not involve an inventive step in the sense of Article 33(3) PCT.
- 4 For the assessment of the present claim 18 on the question whether it is industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

SECTION VI

The examination has been based on the assumption that the claimed priority is valid for all claims. However, if this is not the case, then the following document would become relevant for claims 14-16:

WO 2005/019266 A (AMGEN, INC; Wild, Kenneth, D; Treanor, James, J., S; Huang, Haichun; I) 3 March 2005 (2005-03-03)

SECTION VII

Since claims 7 and 20 relate to deposited biological material, a deposit receipt issued by the depositary institution should be provided in order to comply with Rule 28 EPC (see the Guidelines C-II 6.3), when entering the regional phase before the EPO.

SECTION VIII

1 CLARITY AND SUPPORT (Art. 6 PCT)

- 1.1 The expression "capable of assembling together with the respectively other antibody chain defined below" (claim 14) is vague, since physically any antibody heavy and light chain can assemble, however, only certain combinations will lead to an antibody with the desired specificity. In claim 14 it is not clear which heavy and light chain combinations would result in a functional antibody and no further functional (binding and inhibitory) properties of the antibody are defined.

The expression "wherein the CDRs are selected independently of each other" in claim 14 is inconsistent with the rest of the claim.

Thus, claim 14 lacks clarity and consequently also claims 15 to 17, which refer back to claim 14, are not clear.

- 1.2 It is noted that the terms "preferably" (claim 6) and "optionally" (claim 9) do not affect the scope of a claim.

- 1.3 The application does not meet the requirements of Article 6 PCT, because claims 14-17 are not clear.

44

Enclosure to letter of July 14, 2006

International Application No. PCT/EP2006/000005

Applicant: F. Hoffmann-La Roche AG

Applicant's Ref.: 22922 WO-SR

New Patent Claims

1. An antibody binding to IL-13R α 1 and inhibiting IL-13, characterized in that the variable heavy chain amino acid sequence CDR3 of said antibody is selected from the group consisting of the heavy chain CDR3 sequences of SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7 or 9.
2. An antibody according to claim 1, characterized in that the variable heavy chain amino acid sequences CDR1 and CDR2 of said antibody are selected from the group consisting of the heavy chain CDR1 and CDR2 sequences of SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7 or 9.
3. An antibody according to claim 1 or 2, characterized in that the variable light chain amino acid sequences CDR1, CDR2 and CDR3 of said antibody are selected from the group consisting of the variable light chain amino acid sequences CDR1, CDR2 and CDR3 of SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8 or 10.
4. An antibody according to claim 1 to 3, characterized in comprising a human γ 1-heavy chain comprising
 - a) amino acid sequence Pro₂₃₃Val₂₃₄Ala₂₃₅ with deletion of Gly₂₃₆ and/or amino acid sequence Gly₃₂₇Leu₃₂₈Pro₃₂₉Ser₃₃₀Ser₃₃₁,
 - b) amino acid sequence Ala₂₃₄Ala₂₃₅ or
 - c) amino acids Ala₂₆₅ and Ala₂₉₇.
5. An antibody according to claim 1 to 4, characterized in being a human antibody.
6. An antibody according to claim 1 to 5, characterized by an affinity of 10^{-9} M (K_D) or less, preferably of 10^{-9} to 10^{-13} M for binding to IL-13R α 1.
7. An antibody according to claims 1 to 6 obtained from hybridoma cell line DSM ACC2709, DSM ACC2710, DSM ACC2711 or DSM ACC2712.

48
45

8. An antibody according to claim 1 to 7, characterized in comprising as heavy chain variable region SEQ ID NO: 1 and as light chain variable region SEQ ID NO: 2, as heavy chain variable region SEQ ID NO: 3 and as light chain variable region of SEQ ID NO: 4, as heavy chain variable region SEQ ID NO: 5 and as light chain variable region SEQ ID NO: 6, as heavy chain variable region SEQ ID NO: 7 and as light chain variable region SEQ ID NO: 8 or as heavy variable region SEQ ID NO: 9 and as light chain variable region SEQ ID NO: 10.
9. An antibody according to claim 1 to 6, characterized in comprising
 - a) as heavy chain variable region SEQ ID NO: 1, as light chain variable region SEQ ID NO: 2, as κ light chain constant region SEQ ID NO: 11 and as $\gamma 1$ heavy chain constant region SEQ ID NO: 12 optionally with mutations L234A and L235A or D265A and N297A,
 - b) as heavy chain variable region SEQ ID NO: 3 and as light chain variable region of SEQ ID NO: 4, as κ light chain constant region SEQ ID NO: 11 and as $\gamma 1$ heavy chain constant region SEQ ID NO: 12 optionally with mutations L234A and L235A or D265A and N297A,
 - c) as heavy chain variable region SEQ ID NO: 5 and as light chain variable region SEQ ID NO: 6, as κ light chain constant region SEQ ID NO: 11 and as $\gamma 1$ heavy chain constant region SEQ ID NO: 12 optionally with mutations L234A and L235A or D265A and N297A,
 - d) as heavy chain variable region SEQ ID NO: 7 and as light chain variable region SEQ ID NO: 8, as κ light chain constant region SEQ ID NO: 11 and as $\gamma 1$ heavy chain constant region SEQ ID NO: 12 optionally with mutations L234A and L235A or D265A and N297A, or
 - e) as heavy variable region SEQ ID NO: 9 and as light chain variable region SEQ ID NO: 10, as κ light chain constant region SEQ ID NO: 11 and as $\gamma 1$ heavy chain constant region SEQ ID NO: 12 optionally with mutations L234A and L235A or D265A and N297A.
10. The use of an antibody according to claims 1 to 9 for the manufacture of a pharmaceutical composition.
11. A pharmaceutical composition comprising an antibody according to claims 1 to 9.
12. A recombinant host cell capable of producing a recombinant antibody according to claim 1 to 9.

20

46
46

13. Method for the manufacture of a pharmaceutical composition comprising an antibody according to claims 1 to 9.
14. A nucleic acid encoding a polypeptide capable of assembling together with the respectively other antibody chain defined below, whereas said polypeptide is either
 - a) an antibody heavy chain comprising heavy chain variable regions of SEQ ID NO:1, 3, 5, 7 or 9;
 - b) an antibody light chain comprising light chain variable regions of SEQ ID NO:2, 4, 6, 8 or 10wherein the CDRs are selected independently of each other.
15. An expression vector comprising a nucleic acid according to claim 14, capable of expressing said nucleic acid in a prokaryotic or eukaryotic host cell.
16. A prokaryotic or eukaryotic host cell comprising the vector according to claim 15.
17. A method for the production of a polypeptide binding to IL-13R α 1 and inhibiting the binding of IL-13 to IL-13R α 1, characterized by expressing a nucleic acid encoding a heavy chain and a nucleic acid encoding a light chain according to claim 14 in a prokaryotic or eukaryotic host cell and recovering said polypeptide from said cell.
18. Method for the treatment of a patient in need of an asthma or antiallergic therapy, characterized by administering to the patient an antibody according to claims 1 to 9.
19. Method for the preparation of a pharmaceutical composition characterized in producing an antibody according to claims 1 to 9 by means of recombinant expression, recovering said antibody and combining said antibody with a pharmaceutical acceptable buffer and/or adjuvant.
20. Hybridoma cell line DSM ACC2709, DSM ACC2710, DSM ACC2711 or DSM ACC2712.

47

ANTICUERPOS FRENTE AL RECEPTOR ALFA-1 DE LA IL-13 Y USOS DE LOS MISMOS

5

RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

Un anticuerpo que se enlaza a IL-13R α 1, que inhibe la bioactividad de IL-3 y que comprende una cadena pesada variable y una ligera variable, caracterizada porque la secuencia de aminoácidos CDR3 de la cadena pesada variable de dicho anticuerpo se selecciona a partir del grupo consistente en las secuencias de cadena pesada CR3 de SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7 o 9, es útil en el tratamiento del asma y enfermedades alérgicas.

10

15

20

25

ANTICUERPOS FRENTE AL RECEPTOR ALFA-1 DE LA IL-13 Y USOS DE LOS MISMOS

Caso 22922

La presente invención hace referencia a anticuerpos
5 humanos frente al receptor alfa-1 de la IL-13 (IL-13R α (alfa)1), los métodos para su producción y sus usos.

Antecedentes de la invención

La IL-13 es un péptido monomérico secretado producido
básicamente por las células Th2, pudiendo también ser pro-
10 ducido por los mastocitos y las células NK. Las funciones biológicas de la IL-13 incluyen la regulación de la producción de IgE y la modulación del desarrollo de los Th2. La IL-13 se une a un complejo receptor que consiste en cadena alfa-1 del receptor de IL-13 (IL-13R α 1) y cadena alfa re-
15 ceptora de IL-4 (IL-4R α). La unión de la IL-13 dispara una serie de transducciones de señal mediadas principalmente por la STAT6. La IL-13 se une con baja afinidad al IL-13R α 1 solo y no se une al IL-4R α 1. Por el contrario, la IL-4 se une al IL-4R α solo y no se une al IL-13R α 1 solo. Se ha des-
20 crito otro receptor para la IL-13, el IL-13R α 2. La IL-13 se une a este receptor con alta afinidad. Es probable que este receptor actúe como un receptor señuelo.

La sobreexpresión inducible de IL-13 en ratones trans-
génicos genera un fenotipo que comparte muchas caracterís-
25 ticas con los pacientes asmáticos. Éstos muestran metaplasia de mucosidad e inflamación rica en macrófagos, linfocitos y eosinófilos, regulación ascendente de proteasas como la MMP-9, -12, -13, -2 y -14, catepsina B, H, K y S, pre-

sentando también fibrosis subepitelial. Los ratones con el gen para la IL-13 anulado (knockout) muestran una reducción significativa en la producción de citocinas tipo Th2 debido al deterioro del desarrollo de los Th2. Estos ratones no desarrollan hiperreactividad de las vías respiratorias (airway hyperreactivity, AHR) a pesar de la presencia de inflamación con eosinófilos. La AHR se recupera mediante la administración de IL-13, indicando que la IL-13 es necesaria y suficiente para la inducción de AHR en ratón. Otras funciones biológicas importantes de la IL-13 en relación con el asma incluyen la inducción de metaplasia de células calciformes y producción de moco. Actúa directamente sobre las células epiteliales de las vías respiratorias, fibroblastos y células del músculo liso de las vías respiratorias, induciendo diferentes programas transcripcionales en cada uno de estos tipos celulares. Cabe destacar que la IL-13 disminuye la respuesta α -adrenérgica en las células del músculo liso, contribuyendo a un estrechamiento de las vías respiratorias. El polimorfismo del promotor de la IL-13 se asocia con un aumento del riesgo de asma alérgica. Los polimorfismos en el gen de la IL-13 se asocian con altos niveles de IgE en suero. El polimorfismo de nucleótido único en la secuencia intergénica entre los genes de la IL-4 y de la IL-13 se asocian con asma atópica.

Los antagonistas de la IL-13 han sido utilizados en modelos animales. Por ejemplo, se ha demostrado que una proteína de fusión soluble IL-13R α 2-IgGFC de ratón consigue revertir efectivamente la AHR inducida por ovoalbúmina y

So

reducir el número de células productoras de moco. La reversión se obtuvo incluso cuando el tratamiento se administra tras un completo desarrollo del fenotipo. Además, el tratamiento de ratones con una molécula de citotoxino de fusión a IL-13 resultaba en una reducción de todas las características de la enfermedad de las vías respiratorias propias de una inflamación alérgica crónica inducida por hongos. En conclusión, la IL-13 es una mediadora clave en el disparo de la respuesta alérgica.

10 El IL-13R α 1 es un miembro de la superfamilia de receptores de la hematopoyetina (familia de receptores de citoquinas tipo 1) y fue identificado y descrito por Obiri N. I., et al., J. Biol. Chem., 270 (1995) 8797-8804) y en la WO 96/29417. Es una proteína de 427 aminoácidos incluyendo la secuencia señal. Sus secuencias de ADN y proteína se describen en la WO 97/15663 y en la SwissProt N° P78552. La IL-13R α 1 es una proteína glicosilada que se une a la IL-13 con baja afinidad, pero, cuando se une con IL-4R α a un heterodímero, se une a la IL-13 con alta afinidad. Este complejo también es un receptor para la IL-4.

25 Los anticuerpos frente al IL-13R α 1 son conocidos a partir de WO 96/29417, WO 97/15663, WO 03/080675, Graber P., et al., Eur. J. Immunol., 28 (1998) 4286-4298; Poudrier J., et al., J. Immunol., 163 (1999) 1153-1161; Poudrier J., et al., Eur. J. Immunol., 30 (2000) 3157-3164; Aikawa M., et al., Cytokine, 13 (2001) 75-84. Los anticuerpos frente al IL-13R α se pueden obtener comercialmente de R&D Systems Inc. USA.

53

SI

Resumen de la invención

La invención comprende un anticuerpo que se une al IL-13R α 1 y que inhibe la bioactividad de la IL-13, se caracteriza porque la secuencia de aminoácidos CDR3 de la cadena pesada variable de dicho anticuerpo, se selecciona a partir del grupo que consiste de las secuencias CDR3 de cadena pesada con N° ID: 1, 3, 5, 7 o 9.

El anticuerpo es preferiblemente un anticuerpo humano.

El anticuerpo se caracteriza preferiblemente por una afinidad de unión a IL-13R α 1 de 10^{-9} M (K_D) o menor, preferentemente de 10^{-9} a 10^{-13} M.

El anticuerpo se caracteriza preferiblemente porque sus secuencias de cadena pesada CDR1, CDR2 y CDR3 son seleccionadas a partir del grupo que incluye las secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada con N° de ID: 1, 3, 5, 7 o 9.

El anticuerpo se caracteriza preferiblemente por que las secuencias de amino ácido de cadena ligera variable CDR1, CDR2 y CDR3 de dicho anticuerpo son seleccionadas a partir del grupo que incluye a las secuencias de cadena ligera CDR1, CDR2 y CDR3 con N° de ID: 2, 4, 6, 8 o 10.

El anticuerpo se caracteriza preferiblemente porque las secuencias de aminoácidos de cadena pesada variable CDR1, CDR2 y CDR3 de dicho anticuerpo se seleccionan a partir del grupo que incluye a las secuencias CDR con N° de ID: 1, 3, 5, 7 o 9 y porque las secuencias de amino ácido de cadena ligera variable CDR1, CDR2 y CDR3 del citado anticuerpo son seleccionadas a partir del grupo que incluye a

54

SX
S2

las secuencias de CDR de cadena ligera con N° de ID: 2, 4, 6, 8 o 10.

Las secuencias CDR se seleccionan preferiblemente de forma independiente una de otra y están separadas mediante
5 regiones marco ("framework regions", FR).

El anticuerpo se caracteriza preferentemente por con- tener como CDRs de cadena pesada las CDRs con N° de ID de Sec: 1 y como CDRs de cadena ligera a las CDRs con N° de ID de Sec: 2, como CDRs de cadena pesada las CDRs con N° de ID
10 de Sec: 3 y como CDRs de cadena ligera a las CDRs con N° de ID de Sec: 4, como CDRs de cadena pesada las CDRs con N° de ID de Sec: 5 y como CDRs de cadena ligera a las CDRs con N° de ID de Sec: 6, como CDRs de cadena pesada las CDRs con N° de ID de Sec: 7 y como CDRs de cadena ligera a las CDRs con
15 N° de ID de Sec: 8 o como CDRs de cadena pesada las CDRs con N° de ID de Sec: 9 y como CDRs de cadena ligera a las CDRs con N° de ID de Sec: 10.

Las secuencias de CDR pueden determinarse de acuerdo con la definición estándar de Kabat et al., Sequences of
20 Proteins of Immunological Interest, 5ª ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). Sobre esta base, las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de las secuencias con N° de ID: 1-8 tiene las siguientes secuencias:

25 Las CDRs de cadena pesada: CDR1 (aa 31-35) de N° ID SEC: 1, 3, 5, 7, 9, CDR2 (aa 50-66) de N° ID SEC: 1, 3, 5, 7, 9, CDR3 (aa 99-108) de N° ID SEC: 1, 3, 9, CDR3 (aa 99-107) de N° ID SEC: 5, CDR3 (aa 99-112) de N° ID SEC: 7;

h

S3

Las CDRs de cadena ligera: CDR1 (aa 24-34) de N° ID
SEC: 2, 4, 6, 10, CDR1 (aa 24-35) de N° ID SEC: 8, CDR2
(aa 50-56) de N° ID SEC: 2, 4, 6, 10, CDR2 (aa 51-57) de N°
ID SEC:8 y CDR3 (aa 89-97) de N° ID SEC: 2, 4, 6, 10, CDR3
5 (aa 90-97) de N° ID SEC: 8.

Preferentemente, la invención proporciona un anticuer-
po que comprende como regiones determinantes de complemen-
tariedad (CDR) a las siguientes secuencias:

a) una cadena pesada de anticuerpo que incluye las
10 CDR de cadena pesada con N° de ID SEC: 1, 3, 5, 7 o 9;

b) una cadena ligera de anticuerpo que incluye las
CDRs de cadena ligera con N° de ID SEC: 2, 4, 6, 8 o 10,
donde las CDR se seleccionan de manera independiente una de
otra.

15 El anticuerpo se caracteriza preferentemente por con-
tener como región variable de la cadena pesada la SEC con
N° ID: 1 y como región variable de la cadena ligera la SEC
con N° ID: 2, como región variable de la cadena pesada la
SEC con N° ID: 3 y como región variable de la cadena ligera
20 la SEC con N° ID: 4, como región variable de la cadena pe-
sada la SEC con N° ID: 5 y como región variable de la cade-
na ligera la SEC con N° ID: 6, como región variable de la
cadena pesada la SEC con N° ID: 7 y como región variable de
la cadena ligera la SEC con N° ID: 8 o como región variable
25 de la cadena pesada la SEC con N° ID: 9 y como región va-
riable de la cadena ligera la SEC con N° ID: 10.

El anticuerpo se caracteriza preferentemente por con-
tener

SA
SA

a) como región variable de la cadena pesada la SEC con N° ID: 1, como región variable de la cadena ligera la SEC con N° ID: 2, como región constante de la cadena ligera κ la SEC con N° ID: 11 y como región constante de la cadena pesada γ1 la SEC con N° ID: 12, opcionalmente con las mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A,

b) como región variable de la cadena pesada la SEC con N° ID: 3, como región variable de la cadena ligera la SEC con N° ID: 4, como región constante de la cadena ligera κ la SEC con N° ID: 11 y como región constante de la cadena pesada γ1 la SEC con N° ID: 12 opcionalmente con las mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A,

c) como región variable de la cadena pesada la SEC con N° ID: 5, como región variable de la cadena ligera la SEC con N° ID: 6, como región constante de la cadena ligera κ la SEC con N° ID: 11 y como región constante de la cadena pesada γ1 la SEC con N° ID: 12 opcionalmente con las mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A,

d) como región variable de la cadena pesada la SEC con N° ID: 7, como región variable de la cadena ligera la SEC con N° ID: 8, como región constante de la cadena ligera κ la SEC con N° ID: 11 y como región constante de la cadena pesada γ1 la SEC con N° ID: 12 opcionalmente con las mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A, o

e) como región variable de la cadena pesada la SEC con N° ID: 9, como región variable de la cadena ligera la SEC con N° ID: 10, como región constante de la cadena ligera κ la SEC con N° ID: 11 y como región constante de la ca-

h

SS

dena pesada y1 la SEC con N° ID: 12 opcionalmente con las mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A,

El anticuerpo se caracteriza preferentemente por su unión a IL-13R α 1 en competición con los anticuerpos LC5002-002, LC5002-003, LC5002-005, LC5002-007 y/o LC5002-018. El anticuerpo se caracteriza preferentemente por incluir como regiones variables las regiones variables de LC5002-002, LC5002-003, LC5002-005, LC5002-007 o LC5002-018. Las regiones variables de estos anticuerpos son las que se muestran en la SEC con N° ID: 1-10. En el estado del arte son bien conocidas las regiones constantes útiles. En las SEC con ID N°: 11-12 se muestran algunos ejemplos.

El anticuerpo es preferentemente un anticuerpo monoclonal o producido de forma recombinante.

En una realización de la invención el anticuerpo es un anticuerpo humano con alteración de clase.

En una realización preferida de la presente invención el anticuerpo contiene una cadena pesada humana y1 que incluye:

a) la secuencia de aminoácidos Pro₂₃₃Val₂₃₄Ala₂₃₅ con delección de la Gly₂₃₆ y/o la secuencia de aminoácidos Gly₃₂₇Leu₃₂₈Pro₃₂₉Ser₃₃₀Ser₃₃₁

b) la secuencia de aminoácidos Ala₂₃₄Ala₂₃₅ o

c) los aminoácidos Ala₂₆₅ y Ala₂₉₇.

Preferentemente, de acuerdo con la invención, el anticuerpo inhibe la fosforilación de la Stat-6 inducida por IL-13 con un valor de CI₅₀ de 6nM o menor, inhibe la producción de eotaxina inducida por IL-13 con un valor de CI₅₀

52

88
56

de 20nM o menor y/o inhibe la proliferación celular inducida por IL-13 o IL-4, preferentemente de células TF-1 (ATCC CRL 2003) con un valor de CI_{50} de 10nM o menor (IL-13) y 60nM o menor (IL-4). La fosforilación de Stat-6, la producción de eotaxina e inducción de proliferación celular se determinan de acuerdo con los ejemplos 6 al 8.

El anticuerpo, de acuerdo con la invención, preferiblemente no se une al IL-13R α 1 desnaturalizado (K_D para afinidad de unión de 10^{-6} M o mayor). El anticuerpo se caracteriza preferentemente por no mostrar reacción cruzada substancial con IL-13R α 2 y IL-4R α (K_D para afinidad de unión de 10^{-6} M o mayor).

La invención proporciona también líneas celulares de hibridoma que producen anticuerpos monoclonales antagonistas frente al IL-13R α 1.

Las líneas celulares de hibridoma preferidas de acuerdo con la invención (hu-MAB<h-IL-13R alfa>LC.5002-002 (DSM ACC2709), hu-MAB<h IL-13R alfa>LC.5002-003)DSM ACC2710),), hu-MAB<h IL-13R alfa>LC.5002-005) DSM ACC2711), hu-MAB<h IL-13R alfa>LC.5002-007 (DSM ACC2712)) fueron depositadas el 13-01-2005 en el Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ), Alemania.

Los anticuerpos obtenibles a partir de dichas líneas celulares son realizaciones de la invención.

La invención proporciona además los ácidos nucleicos codificantes para los polipéptidos que conforman los anticuerpos de acuerdo a la invención, vectores de expresión incluyendo dichos ácidos nucleicos y células hospederas pa-

SA
57

ra la producción recombinante de dichos anticuerpos. La invención también proporciona métodos para la producción recombinante de dichos anticuerpos.

Los polipéptidos codificados por los ácidos nucleicos
5 de acuerdo con la invención son:

a) una cadena pesada de anticuerpo que incluye las CDRs de cadena pesada de SEC con N° ID: 1, 3, 5, 7 o 9 y

b) una cadena ligera de anticuerpo incluyendo las CDRs de cadena ligera de SEC con N° ID: 2, 4, 6, 8 o 10.

10 Esos polipéptidos son capaces de ensamblarse junto la otra cadena respectiva de anticuerpo para generar un anticuerpo.

Los anticuerpos, de acuerdo con la presente invención, se han demostrado beneficiosos para pacientes con necesidad
15 de terapia corticosteroide. Los anticuerpos de acuerdo con la presente invención poseen nuevas e innovadoras propiedades que benefician al paciente que sufre asma o enfermedad alérgica.

La invención también proporciona métodos para el tratamiento del asma y de las enfermedades alérgicas.
20

La invención incluye además el uso del anticuerpo sujeto de la invención para el tratamiento del asma y para la fabricación de una composición farmacéutica de acuerdo con la invención. Además, la invención incluye un método para
25 la fabricación de una composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

La invención también incluye una composición farmacéutica que contiene un anticuerpo sujeto de invención con una

cantidad farmacéuticamente efectiva, junto con un tampón y/o adyuvante opcional, útil para la formulación de los anticuerpos para finalidades farmacéuticas.

La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que incluyen dichos anticuerpos en un vehículo aceptable farmacéuticamente. En una realización, la composición farmacéutica puede ser incluida en un artículo manufacturado o en un kit.

La invención incluye también un vector que contiene un ácido nucleico de acuerdo con la invención el cual es capaz de expresar dicho ácido nucleico en una célula hospedera eucariota o procariota.

La invención también incluye una célula hospedera procariota o eucariota conteniendo un vector de acuerdo con la invención.

La invención también incluye un método para la producción de un anticuerpo humano recombinante de acuerdo con la invención, caracterizado por expresar un ácido nucleico de acuerdo con la invención en una célula hospedera procariota o eucariota y la recuperación de dicho anticuerpo de la célula citada. La invención también comprende el anticuerpo obtenible mediante dicho método recombinante.

La invención también comprende un método para la preparación de una composición farmacéutica caracterizado por seleccionar un anticuerpo frente a IL-13R α 1 a partir de una pluralidad de anticuerpos frente a IL-13R α 1 en relación con tal ensayo sin dicho anticuerpo, produciendo el citado anticuerpo mediante expresión recombinante, recuperando dicho

59
59

anticuerpo y combinándolo con un tampón y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable. El anticuerpo tendrá preferentemente una o más de las propiedades adicionales mencionadas más arriba.

5 **Descripción detallada de la invención**

Los términos "IL-13R α 1, IL-13R α 1 murino, IL-13, IL-13R α 2 e IL-4R α " y sus dominios están bien definidos en el estado actual del arte y definidos por ejemplo en SwissProt P78552, O09030, P35225, Q14627 y P24394. Si no se indica lo
10 contrario, los términos "IL-13R α 1, IL-13, IL-13R α 2 e IL-4R α " denotan por lo tanto los polipéptidos humanos IL-13R α 1, IL-13, IL-13R α 2 e IL-4R α .

El término "anticuerpo humano", tal y como se usa a partir de aquí, incluye a los anticuerpos que poseen regiones variables y constantes (dominios) que pueden ser asignadas a secuencias de inmunoglobulinas pertenecientes a líneas germinales humanas definidas debido a su alta similitud o identidad de secuencias con tales secuencias de líneas germinales. Los anticuerpos humanos resultan bien conocidos en el estado del arte (van Dijk, M.A., y van de Winkel, J.G., Curr. Opin. Chem. Biol. 5 (2001) 368-374). Los anticuerpos humanos pueden producirse también en animales transgénicos (ej. ratones) que son capaces, tras ser inmunizados, de producir un repertorio completo o una selección de anticuerpos humanos en ausencia de producción de
25 inmunoglobulina endógena. La transferencia de la serie de genes de la inmunoglobulina de la línea germinal humana en tales ratones mutantes de línea germinal resulta en la pro-

ducción de anticuerpos humanos tras la exposición al antígeno (véase por ej., Jakobovits, A., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 (1993) 2551-2555; Jakobovits, A., et al., Nature 362 (1993) 255-258; Bruggemann, M., et al., Year Immunol. 7 (1993) 33-40). Los anticuerpos humanos pueden producirse también en bibliotecas de "despliegue del fago" (Hoogenboom, H.R., y Winter, G., J. Mol. Biol. 227 (1992) 381-388; Marks, J.D., et al., J. Mol. Biol. 222 (1991) 581-597). Las técnicas de Cole et al. y Boerner et al. Están también disponibles para la preparación de anticuerpos monoclonales humanos (Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); y Boerner, P., et al., J. Immunol. 147 (1991) 86-95). Dentro de la definición de anticuerpo humano se incluyen diferentes formas de anticuerpo, preferiblemente la de anticuerpos monoclonales, comprendiendo pero no estando limitado a anticuerpos completos, fragmentos de anticuerpo, anticuerpos con alteración de clase y anticuerpos modificados genéticamente (anticuerpos mutantes o variantes) mientras se mantengan las propiedades características de acuerdo con la invención. Especialmente preferidos son los anticuerpos recombinantes humanos. El término "anticuerpo monoclonal", tal y como se utiliza en adelante, se refiere a una preparación de moléculas de anticuerpo, todas ellas teniendo sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos.

El término "anticuerpo recombinante humano", tal y como se usa a partir de aquí, pretende incluir todos los anticuerpos humanos que son preparados, expresados, creados o

61

aislados mediante métodos recombinantes, tales como los anticuerpos aislados a partir de una célula hospedera tales como una célula NSO o CHO, o a partir de un animal (ej: ratón) que es transgénico para los genes de la inmunoglobulina humana o los anticuerpos expresados utilizando un vector de expresión recombinante transfectado en la citada célula hospedera. Tales anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones constantes y variables en disposición reorganizada. Los anticuerpos recombinantes humanos de acuerdo con la invención han sido sujetos a una hipermutación somática in vivo. Por lo tanto, las secuencias de aminoácidos de las regiones VH y VL de los anticuerpos recombinantes son secuencias que pueden asignarse a determinadas secuencias VH y VL de líneas germinales humanas, pero que pueden no existir de forma natural dentro del repertorio in vivo de las líneas germinales de anticuerpo humanas.

El término "anticuerpo con alteración de clase" se refiere a un anticuerpo monoclonal, preferiblemente un anticuerpo humano, que comprende una región variable, p.e., la región de unión, que proviene de una fuente o línea germinal y al menos una porción de una región constante que corresponde a una región constante de un anticuerpo de una fuente o línea germinal diferente, preparada normalmente mediante técnicas de ADN recombinantes. Tales anticuerpos con alteración de clase no están disponibles de manera natural y por tanto no se pueden obtener de manera directa a partir de ratones xenoimplantados. Las formas de "anticuerpos con alteración de clase" incluidas en la presente in-

67

62

vención son aquellas en las cuales la región constante presenta diferencias respecto a la secuencia nativa de la región constante, dando como resultado un anticuerpo con propiedades diferentes de acuerdo con la invención, especialmente en relación con la unión a Clq y/o al receptor Fc (FcR), ya sea por cambio o mutación del Fc. Los anticuerpos con alteración de clase son el producto de genes de inmunoglobulina expresados que incluyen segmentos de ADN codificantes para las regiones variables de la inmunoglobulina y segmentos de ADN codificantes para las regiones constantes de la inmunoglobulina. Los métodos para la producción de los anticuerpos con alteración de clase implican técnicas convencionales de ADN recombinante y transfección génica, bien conocidas en el estado del arte (véase, ej: Morrison, S.L., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81 (1984) 6851-6855; Patentes Estadounidenses números 5.202.238 y 5.204.244).

La "región variable" (región variable de una cadena ligera (VL), región variable de una cadena pesada (VH)) tal y como se aplica de aquí en adelante, se refiere a la parte de cada una del par de cadenas ligera y pesada que está directamente implicada en la unión del anticuerpo al antígeno. Los dominios de cadenas ligera y pesada humanas variables tiene la misma estructura general y cada dominio está formado por cuatro regiones marco (FR) cuyas secuencias están ampliamente conservadas, conectadas por tres "regiones hipervariables" (o regiones determinantes de complementariedad, CDRs). Las regiones marco adoptan una conformación

63

de hoja β y las CDRs pueden formar asas que conectan la estructura de lámina beta. Las CDRs de cada cadena se mantienen en su estructura tridimensional mediante las regiones marco y forman, en conjunto con las CDRs de la otra cadena, el lugar de unión al antígeno. Las regiones CDR3 de la cadena pesada y ligera del anticuerpo, preferentemente la CDR3 de cadena pesada, juegan un papel particularmente importante en la especificidad/afinidad de unión de los anticuerpos en concordancia con la invención y por lo tanto constituyen un objeto adicional de la invención.

Los términos "región hipervariable" o "porción de unión al antígeno de un anticuerpo" tal y como se utilizan a partir de aquí, hacen referencia a los residuos de aminoácido de un anticuerpo que son responsables de la unión al antígeno. La región hipervariable comprende los residuos de aminoácido de las "regiones determinantes de complementariedad" o "CDRs". Las regiones "marco" o regiones "FR" son aquellas regiones de dominio variable aparte de los residuos de la región hipervariable tal y como han sido definidas. Por lo tanto, las cadenas ligera y pesada de un anticuerpo comprenden, desde el extremo N al C, los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, y FR4. Las regiones CDR y FR están determinadas de acuerdo con las definiciones estándar dadas por Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991).

Los "dominios constantes" no están implicados de manera directa en la unión de un anticuerpo a un antígeno, pero

66

SA
64

poseen varias funciones efectoras. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos de la región constante de sus cadenas pesadas, los anticuerpos o inmunoglobulinas se dividen en las clases: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varias de estas
5 clases pueden ser a su vez subdivididas en subclases (isotipos), por ej: IgG1, IgG2, IgG3, e IgG4, IgA1 y IgA2. Las regiones constantes de la cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas son las llamadas μ , δ , γ , α , y ϵ ., respectivamente. Los anticuerpos correspondientes a la invención son preferentemente del tipo
10 IgG1.

La parte Fc de un anticuerpo está implicada directamente en la activación del complemento, unión a C1q, activación de C3 y unión a receptor de Fc. La unión a C1q es
15 causada por lugares de unión definidos en la parte Fc. Dichos lugares de unión son conocidos en el estado del arte actual y descritos por ej. en Lukas, T.J., et al., J. Immunol. 127 (1981) 2555-2560; Brunhouse, R., y Cebra, J.J., Mol. Immunol. 16 (1979) 907-917; Burton, D.R., et al., Nature
20 288 (1980) 338-344; Thommesen, J.E., et al., Mol. Immunol. 37 (2000) 995-1004; Idusogie, E.E., et al., J. Immunol. 164 (2000) 4178-4184; Hezareh, M., et al., J. Virol. 75 (2001) 12161-12168; Morgan, A., et al., Immunology 86 (1995) 319-324; y EP 0 307 434. Tales lugares de unión son
25 por ej: L234, L235, D270, N297, E318, K320, K322, P331 y P329 (numerados de acuerdo con el índice EU de Kabat, ver más abajo). Los anticuerpos de las subclases IgG1, IgG2 e IgG3 suelen tener acción activadora del complemento, unión

67

65
65

a Clq y activación de C3, mientras que los anticuerpos IgG4 no activan el sistema del complemento, no se unen a Cq1 y no activan a C3. El término "fragmento Fc derivado de origen humano", tal y como se emplea de aquí en adelante, define un fragmento Fc que preferiblemente tiene una secuencia aminoacídica correspondiente al fragmento Fc de un anticuerpo humano de la subclase IgG1, modificado de tal manera que no se puede detectar unión a clq, activación de C3 y/o unión a Fc, o la unión está disminuida al menos en un 50%, preferiblemente en un 70%, en comparación al anticuerpo IgG1 humano. El término "parte Fc de un anticuerpo" es bien conocido para el especialista formado, siendo definido en base al clivado con papaína de los anticuerpos. Los anticuerpos correspondientes a la invención contienen como parte Fc, preferiblemente con una secuencia de aminoácidos de una parte Fc derivada a partir de un origen humano y preferiblemente todas las demás partes de las regiones constantes humanas. Preferiblemente la parte Fc es una parte Fc humana mutada a partir de la subclase IgG1. De preferencia prioritaria son las partes Fc que incluyen una región constante $\gamma 1$ de la cadena pesada (un ejemplo se muestra en la SEC con N° de ID: 11) con mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A (WO99/51642).

Las cadenas constantes humanas ej. las cadenas pesadas $\gamma 1$ están descritas en detalle por Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991), y por Brüggemann, M., et al., J. Exp. Med. 166

(1987) 1351-1361; Love, T.W., et al., Methods Enzymol. 178
(1989) 515-527. Los dominios constantes preferidos en la
invención no tienen unión a complemento. La "región varia-
ble" (región variable de la cadena ligera (VL), región va-
5 riable de la cadena pesada (VH)) tal y como se utiliza de
aquí en adelante denota cada uno del par de cadenas ligeras
y pesadas que están implicadas directamente en la unión del
anticuerpo al antígeno

El término ácido nucleico o molécula de ácido nucle-
10 co, tal y como se utiliza de aquí en adelante, pretende in-
cluir moléculas de ADN y ARN. Una molécula de ácido nucle-
ico puede ser monocatenamo o dicatenamo, pero preferiblemen-
te es ADN dicatenamo.

Un ácido nucleico está "ligado operativamente" cuando
15 se sitúa en relación funcional con otra secuencia de ácido
nucleico. Por ejemplo, el ADN para una presecuencia o señal
de secreción está ligado operativamente al ADN para un po-
lipéptido si es expresado en forma de preproteína que par-
ticipa en la secreción del polipéptido; un promotor o po-
20 tenciador está ligado operativamente a una secuencia codi-
ficante si afecta la transcripción de la secuencia; o un
lugar de unión para ribosoma está ligado operativamente a
una secuencia codificante si se posiciona de manera que fa-
cilita la traducción. Generalmente, "ligado operativamente"
25 hace referencia a que las secuencias de ADN ligadas están
en cis y, en el caso de una señal de secreción, de forma
contigua y en marco de lectura. Sin embargo, los potencia-
dores no tienen por que estar contiguos. Esta conexión ope-

67

rativa puede conseguirse por ligación mediante en lugares de restricción adecuados. Si tales lugares no existen, se utilizan los adaptadores de oligonucleótido sintéticos o ligadores de acuerdo con práctica común.

5 Tal y como se usa a partir de aquí, las expresiones "célula", "línea celular", y "cultivo celular" pueden aplicarse de manera indistinta y todas ellas incluyen la progenie. Por lo tanto, las palabras "transformantes" y "células transformadas" incluyen la célula sujeto primaria y los
10 cultivos de allí derivados sin importar el número de transferencias. Se entiende también que toda la progenie no debe ser idéntica en su contenido de ANA, debido a mutaciones inducidas o inadvertidas. La progenie variante que tiene la misma función o actividad biológica detectada para la célula
15 la originalmente transformado queda incluida. Donde se apliquen designaciones diferentes se aclarará a partir del contexto.

 El término "unión a IL-13R α 1" tal y como será utilizado a partir de aquí se refiere a la unión del anticuerpo a
20 IL-13R α 1 en un ensayo in vitro, preferiblemente en un ensayo de unión en el cual el anticuerpo se une a una superficie y la unión a IL-13R α 1 se mide mediante resonancia de plasmón superficial (SPR). La unión está definida por una afinidad de unión (K_D) de 10^{-8} M o menor, preferentemente 10^{-13} a 10^{-9} M. "Sin unión" implica una K_D de 10^{-6} M o mayor. Los
25 anticuerpos referentes a la invención se unen al dominio extracelular de la IL-13R α 1 humana y preferiblemente también al IL-13R α 1 de ratón.

70

La unión a IL-13R α 1 puede determinarse utilizando un ensayo BIAcore (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Suecia). La afinidad de la unión está definida por los términos k_a (tasa constante para la asociación del anticuerpo a partir
5 del complejo antígeno/anticuerpo), k_d (tasa de disociación), y K_D (k_d/k_a).

La unión de IL-13 a IL-13R α 1 es inhibida por los anticuerpos correspondientes a la invención. La inhibición se mide en términos de CI_{50} en un ELISA para unión de IL-13 al
10 heterodímero IL-13R α 1/IL-4R α . Para llevar a cabo dicho ensayo el IL-13R α 1 se inmoviliza y se añaden la IL-13 y IL-4R α . Los valores de CI_{50} de los anticuerpos de acuerdo con la invención para la unión de IL-13 a IL-13R α 1 no son mayores de 6nM. Los valores de IC_{50} se miden como valores de la
15 media o promedio de al menos tres medidas independientes. Es posible que los valores individuales de CI_{50} estén fuera del rango.

Los anticuerpos sujeto de la invención muestran preferiblemente una unión a los mismos epítomos del IL-13R α 1 que
20 un anticuerpo seleccionado del grupo consistente en los anticuerpos LC5002-002, LC5002-003, LC5002-005, LC5002-007 o LC5002-018 o su unión a IL-13R α 1 está inhibida por impedimento estérico por la unión de estos anticuerpos. La inhibición de la unión puede detectarse mediante un ensayo de
25 SPR utilizando un anticuerpo inmovilizado seleccionado a partir del grupo que incluye a los anticuerpos LC5002-002, LC5002-003, LC5002-005, LC5002-007 o LC5002-018 y IL-13R α 1 a una concentración de 20-50nM, estando el anticuerpo a de-

69
69

5 tectar a una concentración de 100nM. Una reducción de señal del 50% o mayor demuestra competición por parte del anticuerpo frente a un anticuerpo seleccionado del grupo de anticuerpos que incluye a LC5002-002, LC5002-003, LC5002-005, LC5002-007 o LC5002-018. El término "epítopo" se refiere a un determinante proteico capaz de unión específica frente a un anticuerpo. Un epítopo suele consistir en agrupamientos superficiales de moléculas químicamente activas, tales como cadenas laterales de aminoácidos o azúcares y normalmente poseen unas características de estructura tridimensional específicas, así como características de carga definidas. Los epítopos conformacionales y no conformacionales se distinguen en que la unión a los primeros pero no a los últimos se pierde en presencia de solventes desnaturalizantes.

10

15 La invención incluye también un anticuerpo humano que se une a IL-13R α 1 inhibiendo la bioactividad de IL-13, caracterizado por una afinidad de 10^{-9} M (K_D) o menor, preferentemente de 10^{-9} a 10^{-13} M para la unión a IL-13R α 1 y por una afinidad de 10^{-7} M (K_D) o menor, preferentemente de 10^{-8} a 10^{-9} M para la unión a la IL-13R α 1 murino.

20

En una realización preferida de la invención, los anticuerpos de acuerdo con la invención son caracterizados más a fondo por tener una o más de las características seleccionadas a partir del grupo de parámetros de unión k_a , k_d y K_D , uniéndose al mismo epítopo al cual se une un anticuerpo seleccionado a partir del grupo compuesto por los anticuerpos LC5002-002, LC5002-003, LC5002-005, LC5002-007 o LC5002-018.

25

70
70

Los anticuerpos de acuerdo con la invención se producen de manera preferente por métodos recombinantes. Tales métodos son conocidos ampliamente en el estado del arte e incluyen expresión de proteínas en células eucariotas y
5 procariotas con aislamiento subsecuente del polipéptido de anticuerpo y normalmente una purificación hasta obtener una pureza aceptable desde el punto de vista farmacéutico. Para la expresión de la proteína, los ácidos nucleicos codificantes para las cadenas ligera y pesada o fragmentos de las
10 mismas, se insertan en vectores de expresión mediante métodos estándar. La expresión se lleva a cabo en las células hospederas adecuadas, eucariotas o procariotas, como las células CHO, células NS0, células SP/2, células HEK293, células COS, levadura o células E.coli, siendo recuperado el
15 anticuerpo a partir de las células (sobrenadante o células tras una lisis).

La producción recombinante de anticuerpos es bien conocida en el actual estado del arte, estando descrita por ejemplo, en artículos de revisión como los de Makrides,
20 S.C., Protein Expr. Purif. 17 (1999) 183-202; Geisse, S., et al., Protein Expr. Purif. 8 (1996) 271-282; Kaufman, R.J., Mol. Biotechnol. 16 (2000) 151-161; Werner, R.G., Drug Res. 48 (1998) 870-880.

Los anticuerpos pueden estar presentes en células completas, en un lisado celular o en forma parcialmente o sustancialmente purificada. La purificación se lleva a cabo para eliminar otros componentes celulares u otros contaminantes, por ej: otros ácidos nucleicos o proteínas celulares.

72

71

res, mediante técnicas estándar, que incluyen el tratamiento con álcali/SDS, el bandeo con CsCl, la cromatografía en columna electroforesis en gel de agarosa y otros métodos bien conocidos en el estado del arte. Ver Ausubel, F., et
5 al., ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987).

La expresión en células NS0 está descrita por Barnes, L.M., et al., Cytotechnology 32 (2000) 109-123; y Barnes, L.M., et al., Biotech. Bioeng. 73 (2001) 261-270. La expresión
10 sión transitoria está descrita entre otros por Durocher, Y., et al., Nucl. Acids. Res. 30 (2002) E9. La clonación de dominios variables está descrita por Orlandi, R., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86 (1989) 3833-3837; Carter, P., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89 (1992) 4285-4289; y
15 por Norderhaug, L., et al., J. Immunol. Methods 204 (1997) 77-87. Un sistema de expresión transitoria preferido (HEK 293) es el descrito por Schlaeger, E.-J., y Christensen, K., en Cytotechnology 30 (1999) 71-83 y por Schlaeger, E.-J., en J. Immunol. Methods 194 (1996) 191-199.

20 Las secuencias de control adecuadas para procariotas incluyen, por ejemplo, un promotor, opcionalmente una secuencia operadora y un lugar de unión para el ribosoma. Las células eucariotas se conocen por utilizar promotores, potenciadores y señales de poliadenilación.

25 Los anticuerpos monoclonales son separados de forma adecuada del medio de cultivo mediante protocolos convencionales de purificación de inmunoglobulinas, tales como, por ejemplo, proteína A-sefarosa, cromatografía con

74

72

hidroxilapatita, electroforesis en gel, diálisis o cromatografía de afinidad. El ADN o ARN codificante para los anticuerpos monoclonales se puede aislar y secuenciar fácilmente utilizando los métodos convencionales. Las células de hibridoma pueden servir como fuente de dicho ADN y ARN. Una vez aislado, el ADN puede ser insertado en vectores de expresión, que son transfectados a continuación en células hospederas tales como las células CHO, células HEK293, o células de mieloma que de otra manera no producirían proteína de inmunoglobulina, para obtener así la síntesis de los anticuerpos monoclonales recombinantes en las células hospederas.

Los anticuerpos de acuerdo con la invención incluyen, además, a aquellos anticuerpos que presenten "modificaciones conservadoras en la secuencia", modificaciones de secuencia de aminoácidos o de nucleótidos que no afectan o alteran a las características del anticuerpo de acuerdo con la invención, mencionadas más arriba. Pueden introducirse modificaciones mediante técnicas estándar conocidas en el estado del arte, tales como la mutagénesis dirigida al sitio y la mutagénesis mediada por PCR. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras incluyen aquellas en las que el residuo de aminoácido es sustituido por otro residuo aminoácido con una cadena lateral similar. Las familias de residuos de aminoácidos con cadenas laterales similares han sido definidas en el estado del arte. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo lisina, arginina, histidina), cadenas laterales acídicas

72

73
73

(por ejemplo ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (por ejemplo glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína, triptófano) , cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina), cadenas laterales con ramificaciones beta (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). Por tanto, un residuo aminoácido no esencial no predicho en un anticuerpo humano anti IL-13R α 1 puede ser sustituido preferentemente por otro residuo de aminoácido de la misma familia de cadena lateral.

Las sustituciones de aminoácido pueden llevarse a término mediante mutagénesis basada en modelamiento molecular y como describe Riechmann, L., et al., Nature 332 (1988) 323-327 y Queen, C., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86 (1989)10029-10033.

Los variantes de secuencias de aminoácidos del anticuerpo humano IL-13R α 1 se preparan mediante la introducción de cambios de nucleótido apropiados en el ADN codificante para el anticuerpo, o por síntesis peptídica. Tales modificaciones pueden llevarse a cabo, sin embargo, sólo dentro de un margen muy limitado como el que se describe más arriba. Por ejemplo, las modificaciones no deben alterar las características del anticuerpo mencionadas más arriba, tales como el isotipo de IgG y la unión al epítipo, pero pueden mejorar el rendimiento de la producción recombinante, la estabilidad de la proteína o facilitar su purificación.

76

Cualquier residuo de cisteína que no esté implicado en mantener la conformación adecuada del anticuerpo anti-IL-13R α 1, puede ser también sustituido, generalmente con una serina para mejorar la estabilidad oxidativa de la molécula y evitar el entrecruzamiento aberrantes. De forma complementaria se podrían añadir enlace(s) de cisteína al anticuerpo para mejorar así su estabilidad (en especial cuando el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo como el fragmento Fv).

Otro tipo de variante de aminoácidos en el anticuerpo consistiría en la alteración del patrón original de glicosilación. Por alteración se entiende la eliminación de uno o más grupos carbohidrato presentes en el anticuerpo, y/o la adición de uno o más lugares de glicosilación que no estuviesen presentes en el anticuerpo originalmente. La glicosilación de los anticuerpos está típicamente enlazada a N. Enlazado a N se refiere a la unión del grupo carbohidrato a la cadena lateral de un residuo de asparragina. Las secuencias de tripéptido asparragina-X-serina y asparragina-X-treonina, donde X es cualquier aminoácido excepto la prolina, resultan secuencias de reconocimiento para la unión enzimática del grupo carbohidrato a la cadena lateral de la asparragina. Por tanto, la presencia de cualquiera de esas secuencias de tripéptido en un polipéptido crea un lugar potencial de glicosilación. La adición de sitios de glicosilación a un anticuerpo se puede conseguir mediante la alteración de la secuencia de aminoácidos de manera que pase a contener una o más de las secuencias tripetídicas

75
75

arriba mencionadas (para los lugares de glicosilación enlazados a N).

Las moléculas de ácido nucleico codificantes para variantes de secuencia de aminoácidos del anticuerpo anti-IL-
5 13R α 1 se preparan mediante una diversidad de métodos conocidos en el estado del arte. Estos métodos incluyen, aunque no se limitan a, aislamiento a partir de una fuente natural (para el caso de variantes de secuencia de aminoácidos que se generen de forma natural) o la preparación por mutagéne-
10 sis mediada por oligonucleótido (o dirigidas al sitio), mutagénesis por PCR y por mutagénesis por casete de una versión variante o no variante del anticuerpo anti-13R α 1 preparado con anterioridad.

Otro tipo de modificación covalente es la que implica
15 el enlace al anticuerpo por vía química o enzimática de grupos glicosídicos. Estos procedimientos presentan la ventaja de no requerir la producción del anticuerpo en una célula hospedera que tenga la capacidad de glicosilar ya sea por vía de enlace a N- u O-. Dependiendo del tipo de acoplamiento utilizado, el azúcar/es puede estar unida (a) re-
20 siduo de arginina e histidina, (b) grupos carboxilo libres, (c) grupos sulfhidrilo libres tales como los de la cisteína, (d) grupos hidroxilo libres tales como los de la serina, treonina o hidroxiprolina, (e) residuos aromáticos tales como serían el triptófano, la fenilalanina o la tirosi-
25 na, o (f) al grupo amida de la glutamina. Estos métodos están descritos en WO 87/05330, y en Aplin, J.D., y Wriston, J.C. Jr., CRC Crit. Rev. Biochem. (1981) 259-306.

75

76
76

La remoción de cualquiera de los grupos carbohidrato presentes en el anticuerpo se puede conseguir por métodos enzimáticos o químicos. La desglicosilación química puede conseguirse por la exposición del anticuerpo a ácido trifluorometanosulfónico, o a compuestos equivalentes. Este tratamiento da como resultado el clivado de la mayor parte o todos los azúcares excepto el azúcar de unión (N-acetilglucosamina o N-acetilgalactosamina), dejando el anticuerpo intacto. La deglicosilación química esta descrita por Sojahn, H.T., y Bahl, O.P., Arch. Biochem. Biophys. 259 (1987) 52-57 y por Edge, A.S., et al. Anal. Biochem. 118 (1981) 131-137. El clivado enzimático de los grupos carbohidrato de los anticuerpos puede conseguirse mediante el uso de una gran variedad de endo- y exo- glicosilasas, tal y como está descrito por Thotakura, N.R., y Bahl, O.P., Meth. Enzymol. 138 (1987) 350-359.

Otro tipo de modificación covalente del anticuerpo consiste en la unión al anticuerpo a cualquiera de toda una variedad de polímeros de carácter no proteico, como puede ser el polietilenglicol, el polipropilenglicol o polioxiálquilenos, de la manera establecida en las patentes Estadounidenses con los números 4.640.835; 4.496.689; 4.301.144; 4.670.417; 4.791.192 o 4.179.337.

En otro aspecto diferente, la invención proporciona células B aisladas a partir de un animal transgénico no humano, por ejemplo un ratón transgénico, que expresa los anticuerpos humanos anti-IL-13R α 1 de acuerdo con la invención. Preferiblemente, las células B aisladas se obtienen a

79

77
77

partir de un animal transgénico no humano, por ejemplo un
ratón transgénico, que ha sido inmunizado con una prepara-
ción purificada o enriquecida de antígeno IL-13R α 1 y/o cé-
lulas que expresen el IL-13R α 1. De preferencia, el animal
5 transgénico no humano, por ejemplo un ratón transgénico,
tiene un genoma que incluye un transgen codificante para la
cadena pesada humana y un transgen para la cadena ligera
humana, codificando la totalidad o una parte de un anti-
cuerpo de la invención. Las células B aisladas son a conti-
10 nuación inmortalizadas para proveer una fuente (un hibrido-
ma) de anticuerpos humanos anti-IL-13R α 1. En consecuencia,
la presente invención también provee un hibridoma con la
capacidad de producir anticuerpos monoclonales humanos de
acuerdo con la invención. En una realización, el hibridoma
15 incluye una célula B obtenida a partir de un animal trans-
génico no humano, por ejemplo un ratón transgénico, que po-
see un genoma que incluye un transgen codificante para la
cadena pesada humana y un transgen para la cadena ligera
humana, codificando la totalidad o una parte de un anti-
20 cuerpo de la invención, fusionada con una célula inmortali-
zada.

En una realización particular, el animal transgénico
no humano es un ratón transgénico que posee un genoma con
un transgen codificante para la cadena pesada humana y un
25 transgen para la cadena ligera humana, codificando la tota-
lidad o una parte de un anticuerpo de la invención. El ani-
mal transgénico no humano puede ser inmunizado con una pre-
paración purificada o enriquecida de antígeno IL-13R α 1 y/o

89

70

células que expresen el IL-13R α 1. De preferencia, el animal transgénico no humano, por ejemplo el ratón transgénico, será capaz de producir anticuerpos monoclonales humanos del isotipo IgG1 frente al IL-13R α 1.

5 Los anticuerpos monoclonales humanos de acuerdo con la invención pueden obtenerse mediante la inmunización de un animal transgénico no humano, por ejemplo un ratón transgénico, que posea un genoma con un transgen codificante para la cadena pesada humana y un transgen para la cadena ligera
10 humana, codificando la totalidad o una parte de un anticuerpo de la invención, con una preparación purificada o enriquecida de antígeno IL-13R α 1 y/o células que expresen el IL-13R α 1. A continuación se obtienen las células B del animal (por ejemplo células B de bazo) y se fusionan con
15 células de mieloma para conseguir células de hibridoma inmortales que secreten anticuerpos monoclonales humanos frente al IL-13R α 1.

En una realización preferida, los anticuerpos monoclonales humanos dirigidos contra IL-13R α 1 pueden ser generados, utilizando para ello ratones transgénicos portadores
20 de partes del sistema inmunitario humano en lugar del propio del ratón. Esos ratones transgénicos, designados a partir de aquí como "ratones huMab", contienen minipuntos de genes de inmunoglobulinas humanas no reorganizados, incluyendo la cadena pesada (μ e γ) y la cadena ligera κ (genes
25 para las regiones constantes) junto con mutaciones dirigidas que inactivan los puntos para las cadenas μ y κ endógenas (Lonberg, N., et al., Nature 368 (1994) 856-859). De

20

79
79

forma correspondiente, estos ratones presentarán una reducción de la expresión de las IgM o K de ratón, y como respuesta a la inmunización, los transgenes introducidos para las cadenas pesada y ligera humanas sufrirán intercambio de
5 clase y mutaciones somáticas para generar anticuerpos monoclonales humanos IgG de alta afinidad (Lonberg, N., et al., Nature 368 (1994) 856-859; revisado en Lonberg, N., Handbook of Experimental Pharmacology 113 (1994) 49-101; Lonberg, N., y Huszar, D., Intern. Rev. Immunol. 25 (1995) 65-
10 93; y Harding, F., y Lonberg, N., Ann. N. Acad. Sci 764 (1995) 536-546). La preparación de ratones HuMab está descrita por Taylor, L., et al., Nucleic Acids Research 20 (1992) 6287-6295; Chen, J., et al., International Immunology 5 (1993) 647-656; Tuailon, N., et al., Proc. Natl.
15 Acad. Sci USA 90 (1993) 3720-3724; Choi, T.K., et al., Nature Genetics 4 (1993) 117-123; Chen, J., et al., EMBO J. 12 (1993) 821-830; Tuailon, N., et al., Immunol. 152 (1994) 2912-2920; Lonberg, N., et al., Nature 368 (1994) 856-859; Lonberg, N., Handbook of Experimental Pharmacology
20 113 (1994) 49-101; Taylor, L., et al., Int. Immunol. 6 (1994) 579-591; Lonberg, N., y Huszar, D., Intern. Rev. Immunol. 25 (1995) 65-93; Harding, F., y Lonberg, N., Ann. N. Acad. Sci 764 (1995) 536-546; Fishwild, D.M., et al., Nat. Biotechnol. 14 (1996) 845-851, los contenidos de los cuales
25 están incorporados en su totalidad como referencia. Para más información véanse las patentes Estadounidense número 5.545.806; 5.569.825; 5.625.126; 5.633.425; 5.789.650; 5.877.397; 5.661.016; 5.814.318; 5.874.299; 5.545.807;

22

80

5.770.429; WO 98/24884; WO 94/25585; WO 93/1227;
WO 92/22645; y WO 92/03918.

Para generar anticuerpos monoclonales completamente humanos frente a IL-13R α 1, los ratones HuMab pueden ser in-
munizados con una preparación de antígeno IL-13R α 1 purifi-
cada o enriquecida y/o células que expresen IL-13R α 1 de
acuerdo con el método general, tal y como está descrito por
Lonberg, N., et al., Nature 368 (1994) 856-859; Fishwild,
D.M., et al., Nat. Biotechnol. 14 (1996) 845-851 y
WO 98/24884. Preferiblemente, los ratones tendrán de 6 a 16
semanas de edad en el momento de la primera inmunización.
Por ejemplo, una preparación purificada o enriquecida del
antígeno IL-13R α 1 soluble (por ejemplo, purificado a partir
de células que expresen IL-13R α 1) puede ser utilizada para
inmunizar los ratones HuMab intraperitonealmente. Si resul-
tase que las inmunizaciones utilizando una preparación pu-
rificada o enriquecida del antígeno IL-13R α 1 no diesen como
resultado la producción de anticuerpos, los ratones pueden
ser también inmunizados con células que expresen IL-13R α 1,
por ejemplo una línea celular tumoral, que pudiera inducir
respuesta inmunitaria. La experiencia acumulada utilizando
diferentes antígenos ha demostrado que los ratones transgé-
nicos HuMab responden mejor cuando la inmunización inicial
se hace por vía intraperitoneal utilizando antígeno con ad-
yuvante completo de Freund, seguida de inmunizaciones sema-
nales alterando la vía intraperitoneal con la subcutánea
(p.e, hasta un total de 6) con antígeno en adyuvante incom-
pleto de Freund. La respuesta inmunitaria puede ser monito-

81

reada a lo largo del protocolo de inmunización utilizando muestras de plasma obtenidas por sangrados retroorbitales. El plasma puede ser analizado por ELISA, y los ratones con títulos suficientes de inmunoglobulinas humanas anti-IL-
5 13R α 1 pueden utilizarse para la inmortalización de las células B correspondientes. Los ratones pueden ser reinoculados con antígeno por vía intravenosa de 3 a 4 días antes del sacrificio y extracción del bazo y glándulas linfáticas. Cabe esperar que sea necesario llegar a realizar de 2
10 a 3 fusiones para cada antígeno. Varios ratones serán inmunizados para cada antígeno. Por ejemplo, se puede inmunizar un total de 5 a 12 ratones HuMab de las cepas HCo7 y HCo12.

Los ratones HCo7 tienen una disrupción JKD en los genes para su cadena ligera endógena (kappa) (tal como está
15 descrito en Chen, J., et al., EMBO J. 12 (1993) 821-830), una disrupción CMD en sus genes endógenos para la cadena pesada (tal y como está descrito en el ejemplo 1 del WO 01/14424), un transgen humano KCo5 para la cadena ligera kappa (según lo descrito en Fishwild, D.M., et al., Nat.
20 Biotechnol. 14 (1996) 845-851), y un transgen HCo7 para la cadena pesada humana (según lo descrito en la patente Estadounidense N° 5.770.429).

Los ratones HCo12 tienen una disrupción JKD en los genes para su cadena ligera endógena (kappa) (tal como está
25 descrito en Chen, J., et al., EMBO J. 12 (1993) 821-830), una disrupción CMD en sus genes endógenos para la cadena pesada (tal y como está descrito en el ejemplo 1 del WO 01/14424), un transgen humano KCo5 para la cadena ligera

82

82
82

kappa (según lo descrito en Fishwild, D.M., et al., Nat. Biotechnol. 14 (1996) 845-851), y un transgen HCol2 para la cadena pesada humana (según lo descrito en el Ejemplo 2 del WO 01/14424).

5 Los linfocitos de ratón pueden ser aislados y fusionados con una línea celular de mieloma de ratón para producir hibridomas utilizando protocolos estándar basados en el uso de PEG. Los hibridomas resultantes son rastreados para comprobar la producción de anticuerpos específicos de antígeno. Por ejemplo, suspensiones celulares de linfocitos obtenidos de bazo o glándula linfática a partir de ratones inmunizados son fusionadas con una sexta parte de células de mieloma de ratón no secretoras SP 2/0 (ATCC, CRL 1581) con PEG al 50%. Las células se plaquean a una densidad aproximada de 2×10^5 en microplacas de fondo plano, incubándose durante unas dos semanas en medio selectivo.

10

15

Los pocillos individuales son rastreados por ELISA para detectar los anticuerpos IgM e IgG frente a IL-13R α 1. Una vez se ha producido el suficiente crecimiento del hibridoma, es analizado el medio, normalmente después de 10 a 14 días. Los hibridomas que secreten anticuerpos son plaqueados de nuevo y caracterizados otra vez, si siguen siendo positivos para anticuerpos humanos monoclonales del tipo IgG frente a IL-13R α 1, pueden ser subclonados un mínimo de dos veces por dilución limitante. Los subclones estables se cultivan in vitro para obtener anticuerpo en medio de cultivo de tejido caracterización.

20

25

Debido a que las secuencias CDR son las responsables

5

83
83

de las interacciones entre el antígeno y el anticuerpo, es posible expresar anticuerpos recombinantes de acuerdo con la invención mediante la construcción de vectores de expresión que incluyan las secuencias CDR de acuerdo con la invención dentro de secuencias marco de un anticuerpo humano diferente. (véase por ejemplo, Riechmann, L., et al., Nature 332 (1998) 323-327; Jones, P., et al., Nature 321 (1986) 522-525; y Queen, C., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86 (1989) 10029-10033). Tales secuencias marco pueden ser obtenidas a partir de las bases de datos públicas de ADN que incluyen las secuencias de los genes de anticuerpo humano de la línea germinal. Estas secuencias de líneas germinales se diferenciarán de las secuencias génicas de anticuerpo maduras debido a que no incluirán genes variables completamente ensamblados, que se forman mediante la unión V (D) J durante la maduración de las células B. Las secuencias génicas de las líneas germinales presentan también diferencias puntuales respecto a las secuencias de un anticuerpo de repertorio secundario de alta afinidad distribuidas de manera uniforme a lo largo de la región variable.

La invención incluye preferentemente un fragmento de ácido nucleico codificante para un polipéptido con capacidad de unirse al IL-13R α 1, donde dicho polipéptido inhibe la unión de la IL-13 al IL-13R α 1, seleccionado a partir del grupo que incluye

- a) una cadena pesada de anticuerpo que incluye las CDRs de cadena pesada con N° de ID SEC: 1, 3, 5, 7 o 9;
- b) una cadena ligera de anticuerpo que incluye las

86

87
89

CDRs de cadena ligera con N° de ID SEC: 2, 4, 6, 8 o 10.

Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera reconstruidas, se combinan con las secuencias de un promotor, de iniciación de traducción, región constante, 3' no traducida, de poliadenilación y de terminación de la transcripció
5 n para formar construcciones de vector de expresión. Las construcciones de expresión para las cadenas pesada y ligera pueden ser combinadas en un único vector, transfectarse conjuntamente, transfectarse de manera consecutiva o
10 transfectarse de manera separada en las células hospederas que son a continuación fusionadas para conseguir una única célula hospedera que expresa ambas cadenas.

Como resultado, la invención proporciona un método para la producción de un anticuerpo humano recombinante de
15 acuerdo con la invención, incluyendo la expresión de un ácido nucleico codificante para

- a) una cadena pesada de anticuerpo que incluye las CDRs de cadena pesada con N° de ID SEC: 1, 3, 5, 7 o 9;
- b) una cadena ligera de anticuerpo que incluye las
20 CDRs de cadena ligera con N° de ID SEC: 2, 4, 6, 8 o 10.

Asimismo la invención también incluye el uso de un anticuerpo de acuerdo con la invención para la detección del IL-13R α 1 in vitro, preferentemente por medio de un ensayo inmunológico que determine la unión entre IL-13R α 1 de una
25 muestra y el anticuerpo de acuerdo con la invención.

Por otro lado, la presente invención provee una composición, por ejemplo una composición farmacéutica, incluyendo uno o una combinación de anticuerpos monoclonales huma-

87

85
85

nos, o la parte correspondiente de unión a antígeno del mismo, de la presente invención, formulado junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Tal y como se utiliza a partir de aquí, el término
5 "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye a todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de absorción y similares que sean fisiológicamente compatibles. De preferencia, el vehículo será adecuado para
10 administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, parenteral, espinal o epidérmica (por inyección o infusión).

Una "sal aceptable farmacéuticamente" hace referencia a una sal que retiene la actividad biológica deseada del anticuerpo sin provocar ningún efecto toxicológico indeseado (véase por ejemplo Berge, S.M., et al., J. Pharm. Sci.
15 66 (1977) 1-19). Tales sales están incluidas en la invención. Ejemplos de tales sales incluyen las sales de adición de ácido y las sales de adición de base. Las sales de adición de ácido incluyen a aquellas derivadas a partir de sales inorgánicas no tóxicas, como serían las sales clorhídricas.
20

Una composición de la presente invención puede ser administrado por medio de una variedad de métodos conocidos en el estado del arte. Tal como será evidente para el técnico especialista, la ruta y/o modo de administración
25 variará dependiendo de cuales sean los resultados esperados.

Para administrar un compuesto de la invención a través de ciertas rutas, puede que sea necesario recubrir el com-

83

puesto con, o administrarlo conjuntamente con, un material que evite su inactivación. Por ejemplo, el compuesto puede ser administrado a un sujeto mediante un vehiculante adecuado, como podrían ser los liposomas, o un diluyente. Los
5 diluyentes farmacéuticamente aceptables incluyen las soluciones salinas y soluciones acuosas tamponantes.

Los vehículos aceptables farmacéuticamente incluyen las soluciones acuosas estériles o dispersiones y los polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones
10 inyectables estériles o dispersión. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es conocido en el estado del arte.

Las expresiones "administración parenteral" y "administrado perenteralmente", tal y como se utilizan aquí
15 hacen referencia a las formas de administración diferentes a la administración tópica o enteral, normalmente mediante inyección, e incluye, sin limitaciones, las vías intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intrarticular, subcapsular, subaracnoide, intraespinal, epidural e
20 intraesteARNI.

Estas composiciones pueden contener también adyuvantes tales como conservantes, humectantes, emulsificantes o dispersantes. La presencia de microorganismos puede asegurarse
25 mediante procesos de esterilización supra, y mediante la inclusión de agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo: el parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y

87
87

similares. También puede resultar conveniente incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro sódico y similares en las composiciones. Además, para garantizar la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable se
5 pueden incluir agentes retardantes para la absorción tales como el monoestearato de aluminio y la gelatina.

Independientemente de la ruta de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención, que pueden emplearse en forma hidratada, y/o las composiciones
10 farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante métodos convencionales conocidos para aquellos con conocimientos sobre la materia.

Los niveles de dosificación reales para los ingredientes
15 activos dentro de las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser variados con el fin de tener una cantidad de ingrediente activo que sea suficiente para producir la respuesta terapéutica deseada en cada paciente particular, la composición o/ el modo de administración,
20 sin que llegue a ser tóxico para el paciente. La dosis seleccionada dependerá de una serie de factores farmacocinéticos, incluyendo la actividad de las composiciones particulares de la presente invención empleadas, del éster, sal o amida de las mismas, de la ruta de administración en particular, del momento de la administración, de la tasa de
25 excreción de uno de los compuestos concretos que se emplee, de la duración del tratamiento, de otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación con las composi-

ciones concretas empleadas, de la edad, del sexo, condición, estado general de salud e historia médica previa del paciente en tratamiento, y factores similares, bien conocidos por los especialistas médicos.

5 La composición debe ser estéril y fluido, en la medida que permita su administración mediante una jeringa. Además del agua, el vehículo puede ser una solución salina tamporada e isotónica, etanol, polialcohol (por ejemplo el glicerol, propilen glicol, polietilen glicol líquido y similares), y mezclas adecuadas de los mismos.

10 La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, gracias al uso de recubrimientos tipo lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requeridos en el caso de una dispersión y mediante el uso de surfactantes. En muchas ocasiones, es preferible incluir agentes isotónicos en
15 la composición, por ejemplo, azúcares, polialcoholes, como el manitol o el sorbitol, y cloruro sódico. La absorción a largo plazo de las composiciones inyectables puede conseguirse por la inclusión en la composición de un agente que
20 retrase la absorción, por ejemplo monoestearato de aluminio o gelatina.

 Los siguientes ejemplos, referencias, listado de secuencias y figuras se proporcionan para facilitar la comprensión de la presente invención, el alcance real de la
25 cual se establece en las reivindicaciones anexas. Se da por entendido que pueden hacerse modificaciones en los procedimientos establecidos sin alejarse del espíritu de la invención.

~~88~~
88

89
89

Listado de Secuencias

Descripción del Listado de Secuencias

- N° ID SEC: 1 dominio variable de la cadena pesada del
HuMab LC5002-002
- 5 N° ID SEC: 2 dominio variable de la cadena ligera del
HuMab LC5002-002
- N° ID SEC: 3 dominio variable de la cadena pesada del
HuMab LC5002-003
- N° ID SEC: 4 dominio variable de la cadena ligera del
10 HuMab LC5002-003
- N° ID SEC: 5 dominio variable de la cadena pesada del
HuMab LC5002-005
- N° ID SEC: 6 dominio variable de la cadena ligera del
HuMab LC5002-005
- 15 N° ID SEC: 7 dominio
variable de la cadena pesada del HuMab LC5002-007
- N° ID SEC: 8 dominio variable de la cadena ligera del
HuMab LC5002-007
- N° ID SEC: 9 dominio variable de la cadena pesada del
20 HuMab LC5002-018
- N° ID SEC: 10 dominio variable de la cadena ligera del
HuMab LC5002-018
- N° ID SEC: 11 región constante κ de la cadena ligera
- N° ID SEC: 12 región
- 25 constante γ de la cadena pesada

Descripción de las figuras

Figura 1 muestra la unión de anticuerpos anti-IL-13 α 1 al polipéptido IL-13 α 1 humano recombinante inmovilizado.

90
90

Se incluyen el anticuerpo policlonal de conejo anti-IL-13R α 1 humana AF152 (R&D systems) y un anti-KLH como un HuMab para control negativo.

Figura 2 muestra la inhibición de la unión de IL-13 mediante anticuerpos anti-IL-13R α 1, a un receptor IL-13R α 1/IL-4R α inmovilizado.

Figura 3 muestra el bloqueo de la unión de IL-13 a células CHO (que expresan IL-13R α 1 e IL-4R α 2) mediante anticuerpos anti-IL-13R α 1. Como control positivo se usa un anticuerpo policlonal anti-IL-13R α 1 comercial (AF152, R&D Systems, Minneapolis, MN).

Figura 4 muestra la unión de los anticuerpos anti-IL-13R α 1 a hIL-13R α 1 y las propiedades de unión a receptores relacionados funcionalmente como hIL-13R α 2 y hIL-4R α .

Figura 5 muestra la capacidad de los anticuerpos anti-IL-13R α 1 para unirse al polipéptido recombinante de IL-13R α 1 murino, inmovilizado. Se incluyen el anticuerpo policlonal de cabra anti-IL-13R α 1 humana AF152 (R&D systems) y un anti-KLH como un HuMab para control negativo.

Ejemplos

Ejemplo 1

Generación de hibridomas

Los anticuerpos monoclonales humanos de acuerdo con la invención pueden ser producidos mediante la inmunización de un animal transgénico no humano, como puede ser un ratón transgénico que tenga un genoma que incluya transgenes para las cadenas pesada y ligera codificantes para todo o una parte de un anticuerpo de la presente invención, con célu-

93

91
91

las que expresen el IL-13R α humano. Tras ello se obtienen células B (p.e., del bazo) del animal y se fusionan con células de mieloma para conseguir líneas de hibridoma inmortales que secretan anticuerpos monoclonales humanos frente a IL-13R α 1. Se pueden generar anticuerpos monoclonales humanos frente a IL-13R α 1 utilizando ratones transgénicos portadores de partes del sistema inmunitario humano en lugar del sistema de ratón. Estos ratones transgénicos se denominarán, de aquí en adelante, como ratones "HuMab", estos contienen un minipunto de gen de inmunoglobulina humana que codifica genes no reorganizados de inmunoglobulina humana, que incluyen la cadena pesada (μ e γ) y ligera κ (kappa), (genes de región constante), junto con mutaciones dirigidas que inactivan los puntos endógenos para las cadenas μ y kappa (Lonberg N., et al., Nature 368 (1994) 856-859). Gracias a esto, los ratones muestran una expresión reducida de las IgM o κ de ratón, y, como respuesta a la inmunización, los transgenes introducidos para las cadenas ligera y pesada humanas sufren cambio de clase y mutaciones somáticas para generar anticuerpos monoclonales IgG humanos de alta afinidad. Para producir anticuerpos monoclonales completamente humanos frente a IL-13R α 1, los ratones HuMab pueden inmunizarse con células que expresen IL-13R α 1 humano de acuerdo con el método general, tal y como está descrito por Lonberg, N., et al., Nature 368 (1994) 856-859; Fishwild, D.M., et al., Nat. Biotechnol. 14 (1996) 845-851 y WO 98/24884. Preferiblemente, los ratones deben tener de 6 a 16 semanas de edad al recibir la primera inmunización. Por

97

92
92

ejemplo, las células transfectadas con IL-13R α 1 pueden emplearse para inmunizar los ratones HuMab vía intraperitoneal. La respuesta inmunitaria puede monitorearse a lo largo del protocolo de inmunización mediante la extracción de muestras de plasma obtenidas por sangrados retroorbitales. El plasma puede ser rastreado por ELISA y/o FACS. Los ratones con títulos suficientes de inmunoglobulina humana anti-IL-13R α 1 humana, pueden ser utilizados para inmortalización de las células B correspondientes. Los ratones pueden ser reinmunizados por vía intravenosa con el antígeno unos 3 o 4 días antes del sacrificio y extracción del bazo y glándulas linfáticas. Por ejemplo, pueden inmunizarse ratones HuMab de las cepas HCo7 o HCo12. Los ratones HCo7 tienen una disrupción JKD en sus genes endógenos para la cadena ligera (kappa) (descrito en el Ejemplo 1 de Chen et al. (1993) EMBO J. 12: 821-830), una disrupción CMD en sus genes endógenos para la cadena pesada (descrito en WO 01/14424), un transgen para la cadena ligera kappa humana KCo5 (descrito en Fishwild, D.M., et al. (1996) Nature Biotechnology 14:845-851), y un transgen para la cadena pesada humana HCo7 (descrito en Estadounidense 5.770.429). Los ratones HCo12 tienen una disrupción JKD en sus genes endógenos para la cadena ligera (kappa) (descrito en Chen, J., et al., EMBO J. 12 (1993) 821-830), una disrupción CMD en sus genes endógenos para la cadena pesada (como se describe en el ejemplo 1 de WO 01/14424)) un transgen KCo5 para la cadena ligera humana kappa (descrito en Fishwild, D.M., et al., Nat. Biotechnol. 14 (1996) 845-851, y un transgen

92

HCo12 para la cadena pesada humana (descrito en el ejemplo 2 de WO 01/14424). Los linfocitos de ratón pueden ser aislados y fusionados con una línea celular de mieloma de ratón utilizando PEG según los protocolos estándar para generar hibridomas. A continuación, los hibridomas resultantes son rastreados para determinar la producción de anticuerpos específicos de antígeno. Por ejemplo, suspensiones de célula única de linfocitos derivados del bazo y de glándula de linfa obtenidas a partir de ratones inmunizados se fusionan con células de mieloma de ratón SP/2 no secretoras (ATCC, CRL 1581) con PEG al 50%. Las células se plaquean a aproximadamente $0,75 \times 10^7$ en placas micro título de fondo plano, seguido de unas dos semanas de incubación en medio selectivo. Los pocillos individuales son rastreados por ELISA y/o FACS para la presencia de anticuerpos monoclonales humanos IgM e IgG anti-IL-13R α 1. Una vez se ha obtenido un crecimiento suficiente de los hibridomas, los hibridomas que secretan anticuerpos son plaqueados de nuevo, y si se mantienen positivos para anticuerpos monoclonales IgG humanos anti-IL-13R α 1, pueden ser subclonados como mínimo dos veces por dilución limitante. Los subclones estables son cultivados in vitro para producir anticuerpos en medio de cultivo de tejido para su caracterización.

Procedimiento de inmunización de los ratones transgénicos

Tres ratones HCo7 (3 machos), cepa GG2201 (Medarex, San Jose, CA, USA) y 2 ratones HCo12 (1 macho y una hembra), cepa GG2198 (Medarex, San Jose, CA, USA) fueron inmu-

94

nizados con 1×10^6 células HEK293, previamente transfectadas con un vector de expresión para IL-13R α 1. En total se procedió a ocho inmunizaciones, alternando la vía intraperitoneal (i.p.) con la subcutánea (s.c.) en la base de la cola. Para la primera inmunización se mezclaron 100 μ l de células HEK293: IL-13R α 1 a 1×10^6 con 100 μ l de adyuvante completo de Freund (CFA; Difco Laboratories, Detroit, USA). Para todas las demás inmunizaciones se mezclaron 100 μ l de células en PBS con 100 μ l de adyuvante incompleto de Freund (ICFA; Difco).

Reinoculación de los ratones

Cuando los títulos en suero de anti-IL-13R α 1 se demostraban suficientes, los ratones eran reinoculados de nuevo dos veces con células HEK293: IL-13R α 1 a 1×10^6 , en 200 μ l de PBS (i.v.) 4 y 3 días antes de la fusión.

Ejemplo 2

Comprobación por ELISA de la unión de los HuMab al IL-13R α 1 inmovilizado

Para determinar la capacidad de los anticuerpos de la invención para unirse a IL-13R α 1 recombinante, el dominio extracelular de IL-13R α 1 (R&D Systems, UK) fue disuelto en PBS (1 μ g/ml) y se adsorbió a microplacas (NUNC Maxisorb) mediante una incubación a 4°C durante toda la noche. Tras un lavado de las placas con tampón de lavado (TL = 0,9 % NaCl; 0,1% Tween® 20) los lugares de unión no específica fueron bloqueados mediante la adición de 100 μ l tampón de incubación (TI = PBS con 1% de proteína C y 0,1% de Tween® 20) e incubados durante 30 minutos a temperatura ambiente

46

95
95

(TA). Tras esto se hicieron diluciones seriadas de los HuMab y de los anticuerpos control (100 μ l / pocillo; diluciones en TI), estas se añadieron e incubaron durante 1h a TA. Las placas fueron lavadas de nuevo y los anticuerpos humanos unidos se detectaron mediante una incubación con anti kappa humano de conejo conjugado a peroxidasa (DAKO, Dinamarca) a una dilución final de 1:500 en TI. Los anticuerpos policlonales de cabra anti-hIL-13R α 1 se detectaron con un policlonal anti-cabra IgG de burro conjugado con peroxidasa (Santa Cruz; dilución 1:1000 en TI). Tras incubarse durante 1h a TA y tras un paso de lavado, las placas se revelaron con solución ABTS[®] lista para su uso (Roche Diagnostics GmbH) a TA en la oscuridad. La absorbancia a 405nm se midió en el momento en que la absorbancia de la concentración más alta alcanzaba un valor suficiente.

Todos los anticuerpos frente a IL-13R α 1 que se probaron fueron capaces de unirse dominios extracelulares inmovilizados del IL-13R α 1 humano. Los valores de EC₅₀ que se determinaron estaban en el rango de 0,5 - 2nM para los diversos anticuerpos LC probados. El anticuerpo HuMab anti-KLH que se utilizó como control negativo no se unió a los dominios extracelulares inmovilizados de IL-13R α 1. El control positivo, anticuerpo policlonal de cabra anti-IL-13R α 1 humano, se unió también de forma eficiente a los dominios extracelulares inmovilizados de IL-13R α 1 (Fig.1).

95

96
96

Ejemplo 3

Inhibición de la unión de IL-13 al heterodímero IL-13R α 1/IL-4R α (ELISA)

Se recubrieron microplacas con 100 μ l de la proteína
5 quimérica hIL-13R α 1: hFc (R&D Systems, UK) disuelta en PBS
a 3 μ g/ml durante toda la noche a 4°C, en agitación. Tras
lavar las placas con TL se añadieron diluciones seriadas de
anticuerpos HuMab y anticuerpos de control (100 μ l
/pocillo; diluciones en TI) y se incubaron durante 30 minu-
10 tos a TA. Las placas fueron lavadas de nuevo y tras ello se
añadió una mezcla de IL-13 (R&D Systems, UK; a 0,5 μ g/ml;
diluido con TI) con IL-4R α (R&D Systems, UK; 0,75 μ g/ml; di-
luido con TI), incubándose durante 1h a TA. Tras el lavado
de las placas, se añadieron 100 μ l de anticuerpo biotinilado
15 anti IL-13 (BAF213; R&D Systems, UK) a una concentración de
0,4 μ g/ml y se incubó durante 1h a TA. Tras lavar las
placas, se detectó la IL-13 unida mediante estreptavidina
unida a peroxidasa (Roche Diagnostics GmbH, DE) a una dilu-
ción de 1:5000 en TI (período de incubación de 1h a TA).
20 Finalmente, las placas fueron lavadas y reveladas con solu-
ción de ABTS[®] lista para su uso (Roche Diagnostics GmbH,
DE) a TA en la oscuridad. La absorbancia a 405 se midió
tras 45 - 60 minutos.

Los anticuerpos LC5002-002, LC5002-003, LC5002-005,
25 LC5002-007 y LC5002-018 fueron capaces de inhibir la unión
de la IL-13 al receptor heterodimérico con unos valores
máximos de inhibición que varían de 50 a 80-85%. El control
positivo era AF152 (anticuerpo policlonal de conejo). Tal y

99

97
92

como se esperaba, el control negativo, anti-KLH, no inhibió la unión de IL-13 al receptor heterodimérico. Los valores de CI_{50} obtenidos estaban entre 1,5nM y 10,1nM para LC5002-002, LC5002-003, LC5002-005, LC5002-007 y LC5002-018 (Fig.2).

Ejemplo 4

Ensayo de unión con radioligando

El ensayo de unión de ^{125}I IL-13 se llevó a cabo sobre células CHO que expresan los IL-13R α 1 y IL-4R α humanos, disueltas en tampón de unión (HEPES 25mM, NaCl 150mM, CaCl₂ 1mM, MgCl₂ 5mM, y albúmina sérica bovina al 0,5%, ajustado a pH 7,2). Se mezclaron 1×10^5 células por pocillo con los anticuerpos y se preincubó de 15 minutos a 1 hora. Tras esto se añadió ^{125}I -IL-13 0,1nM y la mezcla se incubó a 4°C durante 4 horas. La concentración de ^{125}I -IL-13 utilizada en el ensayo se determinó a partir de análisis de saturación de unión, análisis de competición y por la determinación de la cantidad de ^{125}I IL-13 necesaria para alcanzar el equilibrio de unión con la línea celular. Las muestras se recogieron en una placa con filtro GF/C pretratada con PEI 1% / BSA 0.5% y medidas en un contador de centelleo Packard Top-Count. El análisis de los datos se llevó a cabo con el software PRISM utilizando el ajuste de curva de regresión no lineal (GraphPad Software, San Diego, CA).

Todos los anticuerpos frente al IL-13R α 1 probados bloquean la unión de la IL-13 marcada al complejo IL-13R α 1/IL-4R α . Los valores de CI_{50} calculados para los anticuerpos LC5002-002, LC5002-003, LC5002-005, LC5002-007 y

20

48
98

LC5002-018 se encontraban entre 0,09nM y 0,32nM, con 84,8nM para el AF152 (Fig.3).

Ejemplo 5

Inhibición por parte de los anticuerpos HuMab de la
5 regulación ascendente de CD23 inducida por IL-13 en células
B humanas y monocitos.

Las células mononucleares de sangre periférica (PBMC)
se aislaron mediante gradiente de densidad de Ficoll Hypaque. Tras un lavado de las células con RPMI, estas fueron
10 resuspendidas en RPMI/10% FCS y distribuidas a una densidad
de 3×10^5 PBMC/pocillo (50 μ l de volumen) en microplacas de
96 pocillos de fondo plano (Corning Incorporated Costar).
Tras esto, se añadían 25 μ l de anticuerpo anti CD40 humano
(Immunotech) a una concentración final de 0,5 μ g/ml en
15 RPMI/10% FCS y 25 μ l de un anticuerpo anti IgA+IgG+IgM
humanas (Immunoresearch) a una concentración final de 10
 μ g/ml en RPMI/10%FCS. Tras esto se añadieron diluciones se-
riadas de los anticuerpos HuMab y control (50 μ l/pocillo;
diluciones en RPMI/10% FCS) y se incubaron durante 30 min
20 en el incubador (37°C; 5% CO₂). A continuación se añadió
IL-13 humana recombinante (R&D Systems) a una concentración
final de 0,67 ng/ml (50 μ l/pocillo), incubándose las célu-
las durante 72h a 37°C/5% CO₂. Tras esta incubación las
placas fueron centrifugadas y el medio aspirado. Para des-
25 prender las células adherentes se añadieron 200 μ l de Accu-
tase (PAA) y se incubaron las células durante aproximada-
mente 5 minutos a 37°C; 5% CO₂. Las células se desprenden
por aclarado repetido y se transfieren a una placa de fondo

29
99

redondo. Tras centrifugar y aspirar los sobrenadantes las células fueron incubadas con 200 μ l de una mezcla de anti-CD23-PE, anti-CD20-FITC y anti-CD14-APC (todos ellos de BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA). Las células fueron
5 incubadas durante 30 minutos a 4°C, centrifugadas y los sobrenadantes aspirados. Este paso de lavado fue repetido una vez y se resuspendió las células en 200 μ l de PBS/0,1% albúmina de suero humano y analizadas por FACS mediante un citómetro de flujo Calibur (BD Biosciences Pharmingen, San
10 Diego, CA) empleando el software CellQuest. En la mayor parte de los casos se adquirieron 10000 eventos, siendo seleccionados y agrupados según la dispersión de la luz, incluyendo sólo los monocitos y linfocitos viables. Las células fueron preagrupadas en un grupo positivo para CD19 para
15 linfocitos B, o un grupo positivo para CD14 para monocitos, y además fueron analizados para la expresión de CD23.

Los valores observados de CI_{50} para la inhibición de la regulación ascendente del CD 23 en linfocitos B estaban entre 0,5nM y >70nM para los anticuerpos LC5002-002, LC5002-
20 003, LC5002-005, LC5002-007 y LC5002-018 y 13,6nM para AF152. Para la inhibición de la regulación ascendente de CD23 inducida por IL-13 se observó un patrón similar en los monocitos humanos. En el caso de los monocitos los valores de CI_{50} estaban entre 0,1nM y 62,8nM para los anticuerpos
25 LC5002-002, LC5002-003, LC5002-005, LC5002-007 y LC5002-018 y 62,9nM para AF152.

~~100~~
100

Ejemplo 6

Ensayo de proliferación de TF-1 en respuesta a estímulo por IL-13 o IL-4

Se cultivaron células TF-1 (ATCC # CRL 2003) en medio
5 de cultivo conteniendo RPMI modificado por la ATCC, FBS al 10%, 1X Pencilina/Estreptomicina, GM-CSF a 2ng/ml. Un día antes del ensayo las células se mantuvieron en medio sin GM-CSF. Se incubaron 5×10^3 células por pocillo con concentraciones adecuadas de anticuerpos anti-IL-13R α 1 a 37°C du-
10 rante 1 hora. A continuación las células fueron estimuladas con IL-13 humana a 2ng/ml (R&D Systems, Minneapolis, MN) o IL-4 humana a 0,1ng/ml (R&D Systems, Minneapolis, MN) e incubadas a 37°C durante 48 horas. Las células fueron pulsadas con ^3H -Timidina 0,5 μCi e incubadas a 37°C de 16 a 18 horas.
15 Las muestras se recogieron en placas GFC que habían sido tratadas con PEI al 1%/BSA al 0,25%, utilizando el recogedor para 96 pocillos "Perkin Elmer Filtermate 96". Las placas GFC fueron contadas utilizando un contador de centelleo "Perkin Elmer Top count". El análisis de los datos se llevó
20 a cabo con el software PRISM utilizando el ajuste a la curva de regresión no lineal (GraphPad Software, San Diego, CA).

Los anticuerpos anti-KLH no produjeron ningún tipo de inhibición en este ensayo. La misma afirmación resulta vá-
25 lida para LC5002-007. Todos los demás anticuerpos inhibieron la respuesta, incluso LC5002-007 inhibió la respuesta con valores de CI más altos que otros anticuerpo. Los valores de CI_{50} observados para los diferentes anticuerpos fue-

101
101

ron de: 13,50nM para AF152, 9,21nM para LC5002-002, 3,07nM para LC5002-003 y de 0,39nM para LC5002-005. Para la proliferación célula de TF-1 inducida por IL-4 se obtuvo un perfil similar, sin embargo la potencia de los anticuerpos era inferior en comparación con las respuestas inducidas por IL-13. Los valores de CI_{50} para la proliferación inducida por IL-4 fueron de 0,02nM para el anticuerpo anti-IL4R, de 74,37nM para AF152 y para los anticuerpos LC5002-002, LC5002-003, LC5002-005, LC5002-007 y LC5002-018 de entre 4,68nM y 60nM.

Ejemplo 7

Inhibición de la producción de eotaxina como respuesta a la IL-13 por fibroblastos humanos de pulmón.

El ensayo se llevó a cabo utilizando células HFL-1 (Human Lung Fibroblast, ATCC # CCL-153). Las células fueron sembradas a una densidad de unas 100.000 células por pocillo en una placa de 12 pocillos y se incubaron a 37°C durante 72 horas hasta alcanzar confluencia. Las células fueron posteriormente mantenidas en medio libre de suero durante 24 horas y tratadas con anticuerpo anti-IL-13R α 1 a 37°C durante 1 hora. A continuación de este tratamiento las células fueron estimuladas con IL-13 a 10ng/ml (R&D Systems, Minneapolis, MN) a 37°C durante 48 horas. Se recogieron los sobrenadantes y se determinó el contenido de eotaxina utilizando ELISA comercial de R&D Systems (Cat. No. DTX00). La lectura de absorbancia se hizo con un lector de placas Spectromax y los datos se analizaron con el programa PRISM (GraphPad Software, San Diego, CA).

101

102
102

Los anticuerpos analizados mostraron diferentes capacidades para inhibir la liberación de eotaxina. Con la excepción de LC5002-007 todos los demás anticuerpos analizados mostraron cierta inhibición. Los valores de CI_{50} promedio calculados a partir de 3 a 4 experimentos diferentes fue de 11,5nM para AF152 y de entre 2,45nM y 19,8nM para los anticuerpos LC5002-002, LC5002-003, LC5002-005, LC5002-007 y LC5002-018.

Ejemplo 8

10 Inhibición de la fosforilación de Stat-6 inducida por IL-13 en células de músculo liso de bronquio humano

Se cultivaron células de músculo liso de bronquio humano (BSMC; Clonetics, Cat. No CC-2576) de acuerdo con las instrucciones del proveedor. Las células se cultivaron en placas de 12 pocillos hasta que alcanzaron confluencia. En ese momento de dejaron 24 horas en medio sin suero y se añadieron cantidades diversas de anticuerpo. Las placas se incubaron durante 1 hora y a continuación fueron estimuladas con IL-13 a 2,5ng/ml (R&D System). Los sobrenadantes se recuperaron tras una incubación de 15 minutos, las células fueron lavadas con tampón fosfato, añadiéndose finalmente 100 μ l de tampón de lisis. La mezcla se sonicó brevemente en hielo y se centrifugó. El lisado se empleó para detección por Western Blot de Stat-6 fosforilada. Se cargó un gel de SDS con cantidades equivalentes de proteína, se corrió y se transfirió a una membrana. El anticuerpo anti-Stat-6 se obtuvo de Santa Cruz Biotechnology (Cat. No. SC-11762R) y se utilizó un anticuerpo secundario acoplado a peroxidasa. La

105

103
103

detección se llevó a cabo utilizando el sistema ECL Plus System de Amersham (Cat No RPN 2132). La cuantificación se hizo con el sistema de representación Typhoon 9400 Imager.

Los dos HuMabs analizados en este ensayo (LC50002-003 y LC5002-005) inhibían la fosforilación de Stat-6 inducida por la IL-13. La potencia observada en este ensayo fue similar a la de otros ensayos funcionales. Los valores de CI_{50} calculados fueron de 18,64nM para AF152, de 5,98nM para LC5002-003 y de 1,18nM para LC5002-005.

10 **Ejemplo 9**

Clonación y análisis de la secuencia codificante para los dominios variables (cadenas ligera- κ y pesada- $\gamma 1$) del HuMab anti-hIL-13R $\alpha 1$.

Las secuencias de nucleótidos codificantes para la región variable de la cadena ligera V_L y la cadena pesada V_H de los anticuerpos HuMabs anti hIL-13R $\alpha 1$ fueron aisladas por síntesis de cADN estándar/ procedimiento de PCR. El ARN total fue obtenido a partir de células de hibridoma a 1×10^6 - 1×10^7 empleando para ello el kit GeneRacer™ (Invitrogen). El ARN derivado de libridona se utilizó como template para la síntesis del ADNc de la primera cadena y ligación del cebador oligo dT GeneRacer™. La síntesis del ADNc de la segunda cadena y la amplificación adicional por PCR de los fragmentos de ADNc codificantes para la V_L y la V_H se llevó a término con cebadores antisentido para la cadena ligera y pesada, complementarios a las secuencias de nucleótidos de la región constante de cadena ligera- κ y pesada- $\gamma 1$ y con cebadores específicos 5' GeneRacer™, respectivamente. Los

103

104

productos de PCR se clonaron utilizando el kit de clonación TOPO™ TA de Invitrogen™ Life Technologies y el vector de clonación pCR4-TOPO™. Los productos de PCR clonados fueron identificados por mapeo de restricción de los plásmidos apropiados utilizando EcoRI para la digestión, y tamaños de fragmento de ADN esperados calculados de aproximadamente 740 y 790 pares de bases para la V_L y la V_H , respectivamente. La secuencia de ADN de los fragmentos de PCR clonados se determinó por secuenciación dicatenaria. Para el procesamiento de datos generales se utilizó el paquete de software del GCG (Genetics Computer Group, Madison, Wisconsin) en su versión 10.2 y el Vector-NTI 8 (InforMax, Inc). Las alineaciones de ADN y proteína fueron alineadas utilizando el módulo CLUSTALW del GCG. Los alineamientos de secuencia se llevaron a cabo utilizando el programa GENEDOC (version 2.1).

Ejemplo 10

Construcción de los plásmidos de expresión para un anticuerpo IgG1 HuMab anti-hIL-13R α 1

Los genes codificantes para las cadenas ligera y pesada del HuMab anti-hIL-13R α 1 fueron ensamblados de forma separada en vectores de expresión para células de mamífero. A continuación los segmentos de genes codificantes para la región variable de la cadena ligera (V_L) del HuMab anti-hIL-13R α 1 y para la región constante κ de la cadena ligera (C_L , SEC N° ID: 11) fueron unidas del mismo modo que se hizo para los segmentos de genes para la región variable de la cadena pesada humana (V_H) y para la región constante $\gamma 1$ de la

104

cadena pesada humana del HuMab anti-hIL-13R $\alpha 1$ (C_{H1} -bisagra-
 C_{H2} - C_{H3} , SEC N° ID: 12). La información general referente a
las secuencias de nucleótidos de las cadenas humanas pesada
y ligera, y de su uso de codón está publicado por: Kabat,
5 E. A., Wu, T. T., Perry, H. M., Gottesman, K. S., y Foeller, C., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Ed., NIH Publication No. 91-3242. La unidad de transcripción de la cadena ligera κ del HuMab anti-hIL-13R $\alpha 1$ está compuesta por los siguientes elementos:

- 10 • El potenciador próximo inmediato y el promotor del citomegalovirus humano (HCMV),
- Un 5'-UT sintético incluyendo una secuencia Kozak,
- Una secuencia señal para la cadena pesada de la
15 inmunoglobulina murina incluyendo el intrón de la secuencia señal,
- El ADNc para la cadena ligera variable del HuMab anti-hIL-13R $\alpha 1$ clonado, dispuesta con un único sitio de restricción para BsmI en su extremo 5', un lugar donante
20 para el corte y empalme y un único sitio de restricción para NotI en el extremo 3',
- La región constante κ del gen, humano, incluyendo el potenciador intrónico 2 Ig- κ de ratón (Picard, D., y Schaffner, W., Nature 307 (1984) 80-82) y
- 25 • La secuencia señal para poliadenilación ("poly-A") de la inmunoglobulina humana.

La unidad de transcripción de la cadena pesada $\gamma 1$ del HuMab anti-hIL-13R $\alpha 1$ está compuesta por los siguientes ele-

106

mentos:

- El potenciador próximo inmediato y el promotor del citomegalovirus humano (HCMV),
- Un 5'-UT sintético incluyendo una secuencia Ko-
5 zak,
- Una secuencia señal para la cadena pesada de la inmunoglobulina murina modificada incluyendo el intrón de la secuencia señal,
- El ADNc para la cadena pesada variable del HuMab
10 anti-hIL-13R α 1 clonado, dispuesta con un único sitio de restricción para BsmI en su extremo 5', un lugar donante para corte y empalme y un único sitio de restricción para NotI en el extremo 3',
- La región constante γ 1 del gen humano, incluyendo
15 el potenciador Ig- μ de ratón (Neuberger, M.S., EMBO J. 2 (1983) 1373-1378)
- La secuencia señal para poliadenilación ("poli-A") γ 1 de la inmunoglobulina humana.

Los elementos funcionales para los plásmidos de expresión de la cadena ligera κ y la cadena pesada γ 1 de los
20 HuMab anti-hIL-13R α 1 contiene:

Además del casete de expresión para la cadena ligera κ y la cadena pesada γ 1 de los HuMab anti-hIL-13R α 1, estos plásmidos contienen:

- 25 • Un gen de resistencia a la higromicina
- Un origen de replicación, oriP, del virus Epstein-Barr (EBV)
- Un origen de replicación procedente del vector

101

107
107

pUC18 que permite la replicación del plásmido en E.coli, y

- Un gen de la β -lactamasa que le aporta resistencia a la ampicilina en E.coli.

Ejemplo 11

5 Construcción de plásmidos de expresión para el anticuerpo mutante (variante) anti-hIL-13R α 1 IgG1

Los plásmidos de expresión codificantes para cadenas pesadas γ 1 mutantes de anti-hIL-13R α 1, pueden generarse por mutagénesis dirigida al sitio de los plásmidos de expresión
10 silvestres utilizando el kit de mutagénesis QuickChange™ Site-Directed (Stratagene) y están descritos en la tabla 1. Los aminoácidos están numerados de acuerdo con la numeración EU (Edelman, G.M., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 63 (1969) 78-85; Kabat, E. A., Wu, T. T., Perry, H. M.,
15 Gottesman, K. S., and Foeller, C., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Ed., NIH Publication No. 91-3242).

20

Tabla 1

Mutación	Descripción
PVA-236; GLPSS331 como se especifica por E233P; L234V; L235A; delta G236;	La secuencia de aminoácidos Glu ₂₃₃ Leu ₂₃₄ Leu ₂₃₅ Gly ₂₃₆ de la cadena pesada humana γ 1 se sustituye por la secuencia de aminoácidos Pro ₂₃₃ Val ₂₃₄ Ala ₂₃₅ de la cadena pesada humana γ 2.

108

A327G; A330S; P331S	La secuencia de aminoácidos Ala ₃₂₇ Leu ₃₂₈ Pro ₃₂₉ Ala ₃₃₀ Pro ₃₃₁ de la cadena pesada humana γ 1 se sustituye por la secuencia de aminoácidos Gly ₃₂₇ Leu ₃₂₈ Pro ₃₂₉ Ser ₃₃₀ Ser ₃₃₁ de la cadena pesada humana γ 4.
L234A; L235A	La secuencia de aminoácidos Leu ₂₃₄ Leu ₂₃₅ de la cadena pesada humana γ 1 se sustituye por la secuencia de aminoácidos Ala ₂₃₄ Ala ₂₃₅

Ejemplo 12

Producción de HuMabs recombinantes anti-hIL-13 α 1

Los anticuerpos HuMabs recombinantes fueron generados mediante transfección transitoria de células adherentes
5 HEK293-EBNA (ATTC CRL-10852) cultivadas en medio DMEM (Gibco) complementado con un 10 % de FCS con un contenido muy bajo en IgG (Gibco), Glutamina 2 mM (Gibco), un 1% v/v de aminoácidos no esenciales (Gibco) y 250 μ g/ml de G418 (Roche Diagnostics GmbH, DE). Para la transfección se utilizó
10 el reactivo de transfección Eugene™ 6 (Roche Diagnostics GmbH, DE) en una proporción de reactivo (μ l) respecto a ADN (μ g) entre 3:1 y 6:1. Las cadenas pesadas y ligeras de la inmunoglobulina fueron expresadas a partir de dos plásmidos diferentes, utilizando una proporción molar de plásmidos
15 codificantes para cadenas pesadas y ligeras de 1:2 a 2:1. Los sobrenadantes de cultivo que contenían anticuerpos mo-

noclonales humanos (HuMab) fueron recuperados entre los días 4 y 11 tras la transfección.

Se puede encontrar información general referente a la expresión recombinante de anticuerpos humanos en líneas como las HEK293 en: Meissner, P., et al., Biotechnol Bioeng 75 (2001) 197-203.

Ejemplo 13

a) Análisis de afinidad de los HuMabs LC5002-003, -005, and -007 usando a hIL-13R α 1: hFc quimérico

10 Para los análisis de interacción se empleo como instrumento el Biacore 3000. Como tampón de corrida y de reacción se utilizó HBS-P (HEPES 10mM, NaCl 150mM, polisurfactante P al 0,005%, pH 7,4) a 25°C. Las moléculas capturadoras (anticuerpos de cabra anti IgG humano, específicos para Fc γ) se enlazaron por su amina a una concentración de 20 μ g/ml con un flujo de 5 μ l/min durante 20 minutos. Los HuMabs se inyectaron a una concentración de 1 μ g/ml con un flujo de 10 μ l/min durante 1 minuto. El bloqueo de los anticuerpos de cabra anti IgG-F, Fc γ humano que quedasen libres se hizo mediante la inyección de gammaglobulina humana 500nM a un flujo de 30 μ l/min durante 3 minutos. El analito (la proteína quimérica hIL-13R α 1: hFc) se inyectó durante dos minutos a cinco concentraciones diferentes, entre 5,63nM y 90nM, haciéndose un lavado con HBS-P durante cinco minutos. La regeneración de la superficie se obtuvo mediante dos inyecciones de HCl 100mM durante 1 minuto cada una. El chip, formato del ensayo y la secuencia de inyecciones, así como los datos cinéticos son los descritos en la tabla

15

20

25

110

2. Para la corrección de la desviación intrínseca de la línea base del sistema los datos del control negativo (curvas con el tampón) se restaron de las curvas generadas por las muestras. Para el análisis de los sensogramas y el cálculo de los datos de afinidad se utilizó el software BiaEvaluation versión 4.01. Los datos de las cinéticas se obtuvieron por ajuste de los datos cinéticos a un modelo de unión 1:1 de Langmuir (Tabla 2).

Tabla 2:

10 **Análisis de afinidades de HuMab usando hIL-13Rα1: hFc.**
Análisis de datos basado en un modelo de unión 1:1 de Langmuir

Chip	Capturador	Ligando	Analito	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
CM5	Anti-hFcγ	LC5002-003	hIL-13 Rα1:hFc	$2,1 \times 10^5$	$1,4 \times 10^{-6}$	$< 6,5 \times 10^{-12}$
CM5	Anti-hFcγ	LC5002-005	hIL-13 Rα1:hFc	$1,73 \times 10^5$	$3,12 \times 10^{-6}$	$1,8 \times 10^{-11}$
CM5	Anti-hFcγ	LC5002-007	hIL-13 Rα1:hFc	$1,19 \times 10^5$	1×10^{-6}	$< 8,4 \times 10^{-12}$

15 **b) Análisis de afinidad de los HuMabs LC5002-003, -005 and -007 usando el dominio extracelular del hIL-13Rα1 clivado de la proteína quimérica hIL-13Rα1: hFc**

Para los análisis de interacción se empleo como instrumento el Biacore 3000. Como tampón de corrida y de reacción se utilizó HBS-P (HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, polisur-

20

factante P al 0,005 %, pH 7,4) a 25°C. Las moléculas captu-
radoras de anticuerpo (anti-hFcγ) se enlazaron por su amina
a una concentración de 100 µg/ml con un flujo de 5µl/min
durante 20 minutos. Los HuMabs se inyectaron a una concen-
5 tración de 10µg/ml con un flujo de 10µl/min durante 30 se-
gundos. Las moléculas hIL-13Rα1 clivados (M_w40kDa) se inyec-
taron durante 200 segundos a siete concentraciones diferen-
tes, entre 1,56nM y 100nM, haciéndose un lavado con el
HBS-P durante cinco minutos. La regeneración de la superfi-
10 cie se obtuvo mediante dos inyecciones de HCl 100 mM duran-
te 1 minuto cada una con un flujo de 10µl/min. El chip,
formato del ensayo y la secuencia de inyecciones, así como
los datos cinéticos son los descritos en la tabla 3. Los
datos de las cinéticas se obtuvieron por ajuste de los da-
15 tos cinéticos a un modelo de unión 1:1 de Langmuir.

Tabla 3:

Chip	Captu- rador	Ligan- do	Analito	k _a (1/Ms)	k _d (1/s)	K _D (M)
C1	Anti- hFcγ	LC5002 -002	hIL-13Rα1	1,1x10 ⁶	6,5x10 ⁻⁴	6,2x10 ⁻¹⁰
C1	Anti- hFcγ	LC5002 -003	hIL-13Rα1	1,3x10 ⁶	5,1x10 ⁻⁴	3,9x10 ⁻¹⁰
C1	Anti- hFcγ	LC5002 -005	hIL-13Rα1	1,4x10 ⁶	3,0x10 ⁻⁴	2,2x10 ⁻¹⁰
C1	Anti- hFcγ	LC5002 -007	hIL-13Rα1	1,9x10 ⁵	8,3x10 ⁻⁴	4,4x10 ⁻⁹
C1	Anti- hFcγ	LC5002 -005,	hIL-13Rα1	1,4x10 ⁶	2,9x10 ⁻⁴	2,1x10 ⁻¹⁰

		Mutan- te L234A; L235A				
--	--	---	--	--	--	--

c) **Análisis comparativo de la afinidad de los variantes recombinantes de LC5002-005, empleando el domino extracelular del hIL-13R α 1 clivado a partir de la proteína química hIL-13R α 1: hFc.**

5 En estos experimentos se comparó la afinidad de la IgG1 original, derivada del hibridoma con las afinidades del variante recombinante IgG1-Ala-Ala. Para los análisis de interacción se utilizó el Biacore 3000. Como tampón de corrido y de reacción se utilizó HBS-P (HEPES 10mM, NaCl
10 150mM, polisurfactante P al 0,005%, pH 7,4) a 25°C. Las moléculas capturadoras de anticuerpo (anti-hFc γ) se enlazaron por su amina a una concentración de 20 μ g/ml con un flujo de 5 μ l/min durante 20 minutos. Los HuMabs se inyectaron a una concentración de 10 μ g/ml con un flujo de 10 μ l/min durante 1
15 minuto. Las moléculas hIL-13R α 1 clivados (analito) se inyectaron durante 5 minutos a ocho concentraciones diferentes, entre 1,56nM y 200nM, haciéndose un lavado con HBS-P durante cinco minutos. La regeneración de la superficie se obtuvo mediante dos inyecciones de HCl 100mM durante 1 mi-
20 nuto cada una. El chip, formato del ensayo y la secuencia de inyecciones, así como los datos cinéticos son los descritos en la tabla 4. Los datos de las cinéticas se obtuvieron por ajuste de los datos cinéticos a un modelo de unión de analito bivalente.

Tabla 4:

Chip	Captura- dor	Ligando	Analito	k_{a1} (1/Ms)	k_{d1} (1/s)	k_{a2} (1/RUs)	k_{d2} (1/s)	K_D (M)
CM5	Anti-hFcγ	LC5002- 005	hIL-13 Rα1	$1,33 \times 10^5$	$3,6 \times 10^{-4}$	$5,8 \times 10^{-3}$	0,06	$2,7 \times 10^{-9}$
CM5	Anti-hFcγ	IgG1 ala- ala LC5002- 005	hIL-13 Rα1	$1,53 \times 10^5$	$4,2 \times 10^{-4}$	$4,1 \times 10^{-3}$	0,04	$2,8 \times 10^{-9}$

Ejemplo 14

5 Comprobación por ELISA de la reactividad cruzada de los HuMab con a hIL-13Rα2 y hIL-4Rα

Las proteínas quiméricas hIL-13Rα2: hFc y hIL-4Rα: hFc (R&D Systems, UK) fueron disueltas en PBS (1μg/ml) y adsorbidas a microplacas (NUNC Maxisorb) mediante una incubación
10 durante toda una noche a 4°C. Tras un lavado de las placas con tampón de lavado (TL = 0,9 % NaCl; 0,1% Tween® 20) los lugares de unión no específica fueron bloqueados mediante la adición de 100 μl tampón de incubación (TI = PBS con 1% de proteína C y 0,1% de Tween® 20) incubándose durante 30
15 minutos a temperatura ambiente (TA). Tras esto se hicieron diluciones seriadas de los HuMab y de los anticuerpos control (100μl / pocillo; diluciones en TI), estas se añadieron e incubaron durante 1h a TA. Las placas fueron lavadas de posterior y los anticuerpos unidos se detectaron mediante
20 una incubación con anti kappa humano de conejo conjugado a

114

peroxidasa (DAKO, Dinamarca) a una dilución final de 1:500 en TI. Tras incubarse durante 1h a TA y tras un nuevo paso de lavado, las placas se revelaron con solución ABTS® lista para su uso (Roche Diagnostics GmbH) a TA en la oscuridad.

5 La absorbancia a 405nm se midió en el momento en que la absorbancia de la concentración más alta alcanzaba un valor suficiente.

Todos los anticuerpos frente al IL-13R α 1 analizados demostraron ser capaces de unirse a dominios extracelulares inmovilizados del IL-13R α 1 humano, pero no a hIL-13R α 2 ni a hIL-4R α (Fig. 4).

Ejemplo 15

Reactividad cruzada de HuMab con IL-13R α 1 murino

La proteína quimérica murina IL-13R α 1: hFc (R&D Systems, UK) se disolvió en PBS (1 μ g/ml) y se dejó absorber en placas (NUNC Maxisorb), mediante incubación a 4°C toda la noche. Tras un lavado de las placas con tampón de lavado (TL = 0,9% NaCl; 0,1% Tween® 20) los lugares de unión no específica fueron bloqueados mediante la adición de 100 μ l

15 tampón de incubación (TI = PBS con 1% de proteína C y 0,1% de Tween® 20) e incubados durante 30 minutos a temperatura ambiente (TA). Tras esto se hicieron diluciones seriadas de los HuMab y de los anticuerpos control (HuMab anti-KLH y policlonal de cabra anti-hIL-13R α 1 (R&D Systems)), se añadieron a los pocillos (100 μ l /pocillo; diluciones en TI),

20 estas se añadieron e incubaron durante 1h a TA. Las placas fueron lavadas de nuevo y los anticuerpos humanos unidos se detectaron mediante una incubación con anti kappa humano de

114

115

conejo conjugado a peroxidasa (DAKO, Dinamarca) a una dilución final de 1:500 en TI. Los anticuerpos policlonales de cabra anti-hIL-13R α 1 se detectaron con un policlonal IgG anti-cabra de burro conjugado con peroxidasa (Santa Cruz; 5 dilución 1:1000 en TI). Tras incubarse durante 1h a TA y tras un posterior paso de lavado, las placas se revelaron con solución ABTS[®] lista para su uso (Roche Diagnostics GmbH) a TA en la oscuridad. La absorbancia a 405nm se midió en el momento en que la absorbancia de la concentración más 10 alta alcanzaba un valor suficiente (Fig. 5).

Ejemplo 16

Reactividad cruzada de los HuMab con IL-13R α 1 de Cynomolgus

El gen codificante para el IL-13R α 1 fue aislado por 15 RT-PCR a partir de tejido de Cynomolgus y fue transfectado a la línea celular murina Ba/F3. Para comprobar si los anticuerpos HuMabs tenían reacción cruzada o no con la IL-13R α 1 de Cynomolgus, se incubaron tanto las células Ba/F3 transfectadas y estabilizadas como las Ba/F3 parentales 20 frente a HuMab a 10 μ g/ml y a anticuerpos control. Como control positivo se utilizó un policlonal de cabra anti-hIL-13R α 1(R&D Systems). Los controles negativos incluidos fueron: una proteína de mieloma IgG1 humano (Nordic) y un suero de cabra normal. Los anticuerpos unidos fueron detectados 25 mediante análisis por FACS utilizando un anticuerpo frente a la IgG humana conjugado con FITC para detectar los HuMabs y un anticuerpo específico para las IgG de cabra conjugado con FITC para la detección de los anticuerpos de

116

cabra. Se compararon las intensidades de fluorescencia medias (IFM) para los diferentes anticuerpos probados sobre la línea transfectada Ba/F3 frente a los obtenidos con la línea parental.

5 Todos los HuMabs de la invención fueron capaces de unirse al IL-13R α 1 de Cynomolgus expresado por células Ba/F3 transfectadas. Tal y como era de esperar debido a la gran homología existente entre el IL-13R α 1 humano y el de Cynomolgus, también el anticuerpo policlonal AF152 presentaba unión al IL-13R α 1 de Cynomolgus. Los anticuerpos control negativo presentaron sólo un aumento marginal de su IFM cuando se ensayaron con la línea celular Ba/F3 transfectada (Tabla 5).

Tabla 5:

	Anticuerpo	IFM Ba/F3	IFM Ba/F3_Cyno_IL-13R α 1	Tasa de incremento de la IFM en presencia de CynoIL-13R α 1
HuMabs	LC5002-002	3,9	83,7	79,8
	LC5002-003	3,4	82,4	79,0
	LC5002-005	14,8	101,5	86,7
	LC5002-007	4,1	19	14,9
Contro- les	AF152	3,2	21,2	18,0
	IgG de ca- bra normal	3,3	5,7	2,4
	IgG1 humana normal (Nordic)	3,5	10,2	6,7

	Sólo IgG- FITC anti- humana	3,3	5,5	2,2
--	-----------------------------------	-----	-----	-----

Ejemplo 17

Unión de HuMab anti-IL-13R α 1 a receptores de Fc γ (unión a Fc γ RIIIa en células NK)

Para determinar la capacidad de los anticuerpos de la invención para unirse a Fc γ RIIIa (CD16) en células NK asesinas naturales (NK), se aislaron Células Mononucleares de Sangre Periférica (PBMCs) y se incubaron con anticuerpo HuMab a 20 μ g/ml y con anticuerpos control en presencia o ausencia de anticuerpo de ratón bloqueador para Fc γ RIIIa (anti-CD16, clon 3G8, RDI, Flanders, NJ) a 20 μ g/ml, para verificar la unión vía Fc γ RIIIa. Como controles negativos se usaron IgG2 e IgG4 humana (El sitio de unión), que no se unen a Fc γ RIIIa. Las IgG1 y IgG3 humanas (El sitio de unión) se utilizaron como controles positivos para unión a Fc γ RIIIa. Los anticuerpos unidos a las células NK se detectaron por análisis de FACS utilizando un anticuerpo anti CD56 humano de ratón marcado con PE (marcador de superficie de las células NK) (BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA) en combinación con un anticuerpo (Fc) anti IgG humana F(ab)₂ de cabra marcado con FITC (Protos immunoresearch, Burlingame, CA). Determinándose la unión máxima a 20 μ g/ml (U_{max}: IFM $\pm$ desv.est.) del HuMab analizado.

El LC5002-005 era capaz de unirse a Fc γ RIIIa de forma eficiente (comparable al anticuerpo IgG1 control) tal como lo indicaba un valor de U_{max} (IFM) de 580,6 $\pm$ 245,8. La adi-

119
119

Listado de Referencias

- Aikawa, M., et al., Cytokine 13 (2001) 75-84
- Aplin, J.D., and Wriston, J.C. Jr., CRC Crit. Rev. Biochem. (1981) 259-306
- 5 Ausubel, F., et al., ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)
- Barnes, L.M., et al., Cytotechnology 32 (2000) 109-123
- Barnes, L.M., et al., Biotech. Bioeng. 73 (2001) 261-
10 270
- Berge, S.M., et al., J. Pharm. Sci. 66 (1977) 1-19
- Boerner, P., et al., J. Immunol. 147 (1991) 86-95
- Brueggemann M., et al., J. Exp. Med. 166 (1987) 1351-
1361
- 15 Bruggemann, M., et al., Year Immunol. 7 (1993) 33-40
- Brunhouse, R., and Cebra, J.J., Mol. Immunol. 16
(1979) 907-917
- Burton, D.R., et al., Nature 288 (1980) 338-344
- Carter, P., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89
20 (1992) 4285-4289
- Chen, J., et al., International Immunology 5 (1993)
647-656
- Chen, J., et al., EMBO J. 12 (1993) 821-830
- Choi, T.K., et al., Nature Genetics 4 (1993) 117-123
- 25 Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,
Alan R. Liss (1985) p. 77
- Durocher, Y., et al., Nucleic Acids. Res. 30 (2002) E9
- Edelman, G.M., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 63

120
120

- (1969) 78-85
- Edge, A.S., et al., Anal. Biochem. 118 (1981) 131-137
- EP 0 307 434
- Fishwild, D.M., et al., Nat. Biotechnol. 14 (1996)
- 5 845-851
- Geisse, S., et al., Protein Expr. Purif. 8 (1996) 271-282
- Graber, P., et al., Eur. J. Immunol. 28 (1998) 4286-4298
- Harding, F., and Lonberg, N., Ann. N. Acad. Sci 764
- 10 (1995) 536-546
- Harding, F., and Lonberg, N., Ann. N. Acad. Sci 764
- (1995) 536-546
- Hezareh, M., et al., J. Virol. 75 (2001) 12161-12168
- Hoogenboom, H.R., and Winter, G., J. Mol. Biol. 227
- 15 (1992) 381-388
- Idusogie, E.E., et al., J. Immunol. 164 (2000) 4178-4184
- Jakobovits, A., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90
- (1993) 2551-2555
- 20 Jakobovits, A., et al., Nature 362 (1993) 255-258
- Jones, P., et al., Nature 321 (1986) 522-525
- Kabat, E.A., et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991), NIH
- 25 Publication No. 91-3242
- Kaufman, R.J., Mol. Biotechnol. 16 (2000) 151-161
- Lonberg, N., et al., Nature 368 (1994) 856-859
- Lonberg, N., Handbook of Experimental Pharmacology 113

123

12f
121

- (1994) 49-101
- Lonberg, N., and Huszar, D., Intern. Rev. Immunol. 25
(1995) 65-93
- Love, T.W., et al., Methods Enzymol. 178 (1989) 515-
5 527
- Lukas, T.J., et al., J. Immunol. 127 (1981) 2555-2560
- Makrides, S.C., Protein Expr. Purif. 17 (1999) 183-202
- Marks, J.D., et al., J. Mol. Biol. 222 (1991) 581-597
- Meissner, P., et al., Biotechnol Bioeng 75 (2001) 197-
10 203
- Morgan, A., et al., Immunology 86 (1995) 319-324
- Morrison, S.L., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81
(1984) 6851-6855
- Neuberger, M.S., EMBO J. 2 (1983) 1373-1378
- 15 Norderhaug, L., et al., J. Immunol. Methods 204 (1997)
77-87
- Obiri, N.I., et al., J. Biol. Chem. 270 (1995) 8797-
8804
- Orlandi, R., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86
20 (1989) 3833-3837
- Picard, D., and Schaffner, W., Nature 307 (1984) 80-82
- Poudrier, J., et al., J. Immunol. 30 (2000) 3157-3164
- Poudrier J., et al., J. Immunol., 163 (1999) 1153-1161
- Queen, C., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86
25 (1989) 10029-10033
- Riechmann, L., et al., Nature 332 (1988) 323-327
- Schlaeger, E.-J., and Christensen, K., Cytotechnology
30 (1999) 71-83

12f

122
122

- Schlaeger, E.-J., in J. Immunol. Methods 194 (1996)
191-199
- Sojahn, H.T., and Bahl, O.P., Arch. Biochem. Biophys.
259 (1987) 52-57
- 5 SwissProt No. O09030
SwissProt No. P24394
SwissProt No. P35225
SwissProt No. P78552
SwissProt No. Q14627
- 10 Taylor, L., et al., Nucleic Acids Research 20 (1992)
6287-6295
- Taylor, L., et al., Int. Immunol. 6 (1994) 579-591
- Thommesen, J.E., et al., Mol. Immunol. 37 (2000) 995-
1004
- 15 Thotakura, N.R., and Bahl, O.P., Meth. Enzymol. 138
(1987) 350-359
- Tuaille, N., et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA 90
(1993) 3720-3724
- Tuaille, N., et al., Immunol. 152 (1994) 2912-2920
- 20 Patente Estadounidense N° 4.640.835
Patente Estadounidense N° 4.496.689
Patente Estadounidense N° 4.301.144
Patente Estadounidense N° 4.670.417
Patente Estadounidense N° 4.791.192
- 25 Patente Estadounidense N° 4.179.337
Patente Estadounidense N° 5.202.238
Patente Estadounidense N° 5.204.244
Patente Estadounidense N° 5.545.806

125

- Patente Estadounidense N° 5.545.807
- Patente Estadounidense N° 5.569.825
- Patente Estadounidense N° 5.625.126
- Patente Estadounidense N° 5.633.425
- 5 Patente Estadounidense N° 5.661.016
- Patente Estadounidense N° 5.770.429
- Patente Estadounidense N° 5.789.650
- Patente Estadounidense N° 5.814.318
- Patente Estadounidense N° 5.874.299
- 10 Patente Estadounidense N° 5.877.397
- van Dijk, M.A., and van de Winkel, J.G., Curr. Opin.
Chem. Biol 5 (2001) 368-374
- Werner, R.G., Drug Res. 48 (1998) 870-880
- WO 87/05330
- 15 WO 92/22645
- WO 92/03918
- WO 93/1227
- WO 94/25585
- WO 96/29417
- 20 WO 97/15663
- WO 98/24884
- WO 01/14424
- WO 03/080675

124
124

Reivindicaciones de la Patente

①. Un anticuerpo, caracterizado por que la secuencia de aminoácidos CDR3 de la cadena pesada variable de dicho anticuerpo se selecciona del grupo que consiste de las se-
5 cuencias CDR3 de ID de SEC N°: 1, 3, 5, 7 ó 9.

2. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que las secuencias de aminoácidos CDR1 y CDR2 de la cadena pesada variable de dicho anticuerpo están
10 seleccionadas a partir del grupo de secuencias CDR1 y CDR2 de cadena pesada con ID de SEC N°: 1, 3, 5, 7 ó 9

3. Un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizado por que las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 o CDR3 de cadena ligera variable de dicho anti-
15 cuerpo son seleccionadas del grupo que consiste en las se- cuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera variable con ID de SEC N°: 2, 4, 6, 8 ó 10.

4. Un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones de la 1 a la 3, caracterizado por incluir una cadena pesada
20 humana y1 que comprende

a) la secuencia de aminoácidos Pro₂₃₃Val₂₃₄Ala₂₃₅ con deleción de la Gly₂₃₆ y/o la secuencia de aminoácidos Gly₃₂₇Leu₃₂₈Pro₃₂₉Ser₃₃₀Ser₃₃₁,

b) la secuencia de aminoácidos Ala₂₃₄Ala₂₃₅ o

25 c) los aminoácidos Ala₂₆₅ y Ala₂₉₇.

5. Un anticuerpo, de acuerdo con las reivindicaciones de la 1 a la 4, caracterizado por ser un anticuerpo humano.

6. Un anticuerpo, de acuerdo con las reivindicaciones de la 1 a la 5, caracterizado por tener una afinidad de

124

125
125

unión (K_D) a IL-13R α 1 de 10^{-9} o menos, preferentemente de 10^{-9} a 10^{-13} .

7. Un anticuerpo, de acuerdo con las reivindicaciones de la 1 a la 6 obtenido a partir de una línea celular de hibridoma DSM ACC2709, DSM ACC2710, DSM ACC2711 o DSM ACC2712.

8. Un anticuerpo, de acuerdo con las reivindicaciones de la 1 a la 7, caracterizado por tener como región variable de la cadena pesada a la región con N° de ID SEC: 1 y como región variable de la cadena ligera a la de N° de SEC: 2, como región variable de la cadena pesada a la región con N° de ID SEC: 3 y como región variable de la cadena ligera a la de N° de SEC: 4, como región variable de la cadena pesada a la región con N° de ID SEC: 5 y como región variable de la cadena ligera a la de ID de SEC N°: 6, como región variable de la cadena pesada a la región con ID de SEC N°: 7 y como región variable de la cadena ligera a la de ID de SEC N°: 8 o como región variable de la cadena pesada a la región con N° de ID SEC: 9 y como región variable de la cadena ligera a la de ID de SEC N°:10.

9. Un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones de la 1 a la 6 que contiene:

a) como región variable de la cadena pesada la ID de SEC: 1, como región variable de la cadena ligera la N° de ID SEC:2, como región constante de la cadena ligera a la ID de SEC N°: 11 y como región constante de la cadena pesada a la ID de SEC N°: 12 opcionalmente con mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A,

126
126

b) como región variable de la cadena pesada la ID de SEC N°: 3, y como región variable de la cadena ligera la ID de SEC N°:4, como región constante de la cadena ligera κ la ID de SEC N°: 11 y como región constante de la cadena pesada γ1 la ID de SEC N°: 12 opcionalmente con mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A,

c) como región variable de la cadena pesada la N° de ID SEC: 5, como región variable de la cadena ligera la N° de ID de SEC:6, como región constante de la cadena ligera κ la N° de ID de SEC: 11 y como región constante de la cadena pesada γ1 ID de SEC N°: 12 opcionalmente con mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A,

d) como región variable de la cadena pesada la N° de ID SEC: 7, como región variable de la cadena ligera la N° de ID de SEC:8, como región constante de la cadena ligera κ la N° de ID de SEC: 11 y como región constante de la cadena pesada γ1 la ID de SEC N°: 12 opcionalmente con mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A, o

e) como región variable de la cadena pesada la N° de ID SEC: 9, como región variable de la cadena ligera la N° de ID de SEC:10, como región constante de la cadena ligera κ la N° de ID de SEC: 11 y como región constante de la cadena pesada γ1 ID de SEC N°: 12 opcionalmente con mutaciones L234A y L235A o D265A y N297A.

25 (10). El uso de un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones de la 1 a la 9 para la fabricación de una composición farmacéutica.

11. Una composición farmacéutica que incluye una can-

129

127

tividad con efectividad farmacéutica de un anticuerpo que esté acorde con las reivindicaciones de la 1 a la 9.

5 (12). Una célula hospedera recombinante capaz de producir un anticuerpo recombinante de acuerdo con las reivindicaciones de la 1 a la 9.

 (13). Un método para la producción de una composición farmacéutica que incluye una cantidad con efectividad farmacéutica de un anticuerpo que esté acorde con las reivindicaciones de la 1 a la 9.

10 (14). Un ácido nucleico codificante para un polipéptido capaz de ensamblarse con la otra cadena de anticuerpo descrita más abajo, donde dicho polipéptido sea cualquiera de los siguientes:

 a) una cadena pesada de anticuerpo que incluya CDRs de
15 cadena pesada con N° de ID de SEC: 1, 3, 5, 7 ó 9.

 b) una cadena ligera de anticuerpo que incluya CDRs de cadena ligera con N° de ID SEC: 2, 4, 6, 8 ó 10.

 Donde las CDR son seleccionadas de forma independiente unas de la otras.

20 (15). Un vector de expresión que incluye un ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 14, capaz de expresar dicho ácido nucleico en una célula hospedera eucariota o procariota.

 (16). Una célula hospedera procariota o eucariota incluyendo el vector de acuerdo con la reivindicación 15.

 (17). Un método para la producción de un polipéptido con capacidad de unión a IL-13R α 1 y que inhibe la unión de IL-13 a IL-13R α 1, caracterizado por expresar un ácido nucleico

120

128
128

codificante para una cadena pesada y un ácido nucleico codificante para una cadena ligera de acuerdo con la reivindicación 14 en una célula hospedera procariota o eucariota con la recuperación de dicho polipéptido a partir de la célula citada.

5 (18). Un método para el tratamiento de un paciente que requiera terapia para el asma o antialérgica, caracterizado por la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo que este en concordancia con las reivindicaciones de la 1 a la 9.

10 19. Un método para la preparación de una composición farmacéutica caracterizada por producir un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1 a la 9 mediante expresión recombinante, recuperando dicho anticuerpo y combinándolo con un tampón y/o adyuvante farmacéuticamente aceptables.

(20). Las líneas celulares de hibridoma DSM ACC2709, DSM ACC2710, DSM ACC2711 o DSM ACC2712.

128

129
129

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> F. Hoffmann-La Roche AG
<120> Anticuerpos frente al receptor alfa-1 de la IL-13 y
5 usos de los mismos
<130> 22922 EP
<160> 12
<170> PatentIn versión 3.2
<210> 1
10 <211> 119
<212> PRT
<213> Artificial
<220>
<223> LC5002-002 VH gamma/dominio variable de la cadena
15 pesada
<400> 1
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ile Tyr
20 20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Val Ile Ser Gly Arg Gly Ile Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
25 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

132

130
130

Ala Lys Gly Ser Ser Ser Trp Thr Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
5 115
<210> 2
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial
10 <220>
<223> LC5002-002 VL cadena kappa /dominio variable de la cadena
<400> 2
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
15 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Arg Trp
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
20 50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp
85 90 95
25 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 3
<211> 119

133

131
131

<212> PRT
<213> Artificial
<220>
<223> LC5002-003 VH gamma/dominio variable de la cadena pesada
5 <400> 3
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Asp Leu Ile Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ile Tyr
20 25 30
10 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Val Ile Ser Gly Arg Gly Ile Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
15 65 70 75 80
Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Gly Ser Ser Tyr Trp Thr Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
20 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115
<210> 4
<211> 107
<212> PRT
25 <213> Artificial
<220>
<223> LC5002-003 VL kappa/dominio variable de la cadena ligera
<400> 4

132

132
132

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
5 20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
10 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
15 100 105
<210> 5
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial
20 <220>
<223> LC5002-005 VH gamma/dominio variable de la cadena pesada
<400> 5
Glu Val Gln Val Leu Asp Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
25 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Leu Tyr
20 25 30
Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

135

Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Leu Ser Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
5 65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Glu Gly Asp Trp Ile Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
10 Leu Val Ile Val Ser Ser
115
<210> 6
<211> 107
<212> PRT
15 <213> Artificial
<220>
<223> LC5002-005 VL kappa/dominio variable de la cadena ligera
<400> 6
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
20 1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
25 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

134
134

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser His Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
5 100 105
<210> 7
<211> 123
<212> PRT
<213> Artificial
10 <220>
<223> LC5002-007 VH gamma/dominio variable de la cadena pesada
<400> 7
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
15 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Phe Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Arg Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
20 50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Val Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
25 Ala Arg Glu Gly Glu Thr Leu Asp Tyr Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

137

135
135

<210> 8
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial
5 <220>
<223> LC5002-007 VL kappa/dominio variable de la cadena ligera
<400> 8
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
10 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Ile Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
15 50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Gly Ser Ser Leu
85 90 95
20 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 9
<211> 119
<212> PRT
25 <213> Artificial
<220>
<223> LC5002-018 VH gamma/dominio variable de la cadena pesada
<400> 9

135

136
136

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ile Tyr
5 20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Val Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
10 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Gly Ser Ser Trp Tyr Val Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
15 100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115
<210> 10
<211> 107
20 <212> PRT
<213> Artificial
<220>
<223> LC5002-018 VL kappa/dominio variable de la cadena ligera
<400> 10
25 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

136

137

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
5 50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp
85 90 95
10 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 11
<211> 107
<212> PRT
15 <213> Homo sapiens
<400> 11
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 20 25 30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
25 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

140

139
138

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105
<210> 12
5 <211> 330
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 12
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
10 1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
15 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
20 85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
25 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

141

139
139

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
5 180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
10 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
15 260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
20 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

142

140

Fig. 1

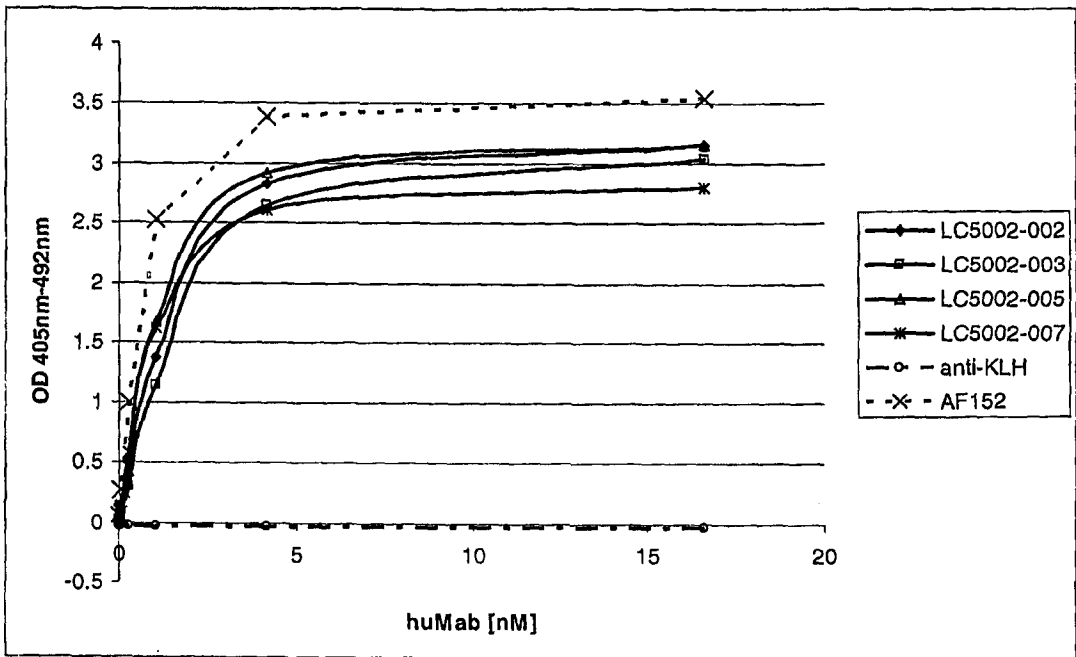
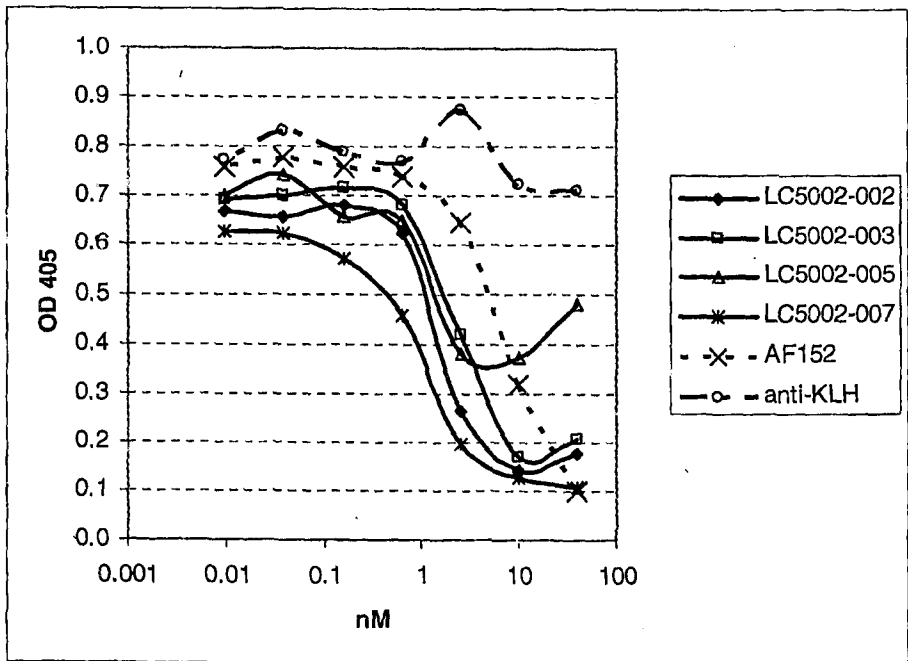


Fig. 2



143

141

Fig. 3

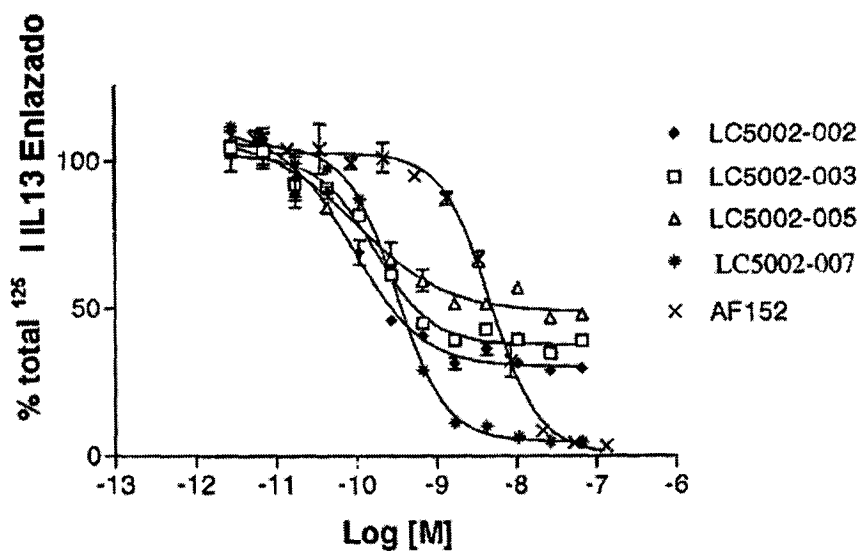
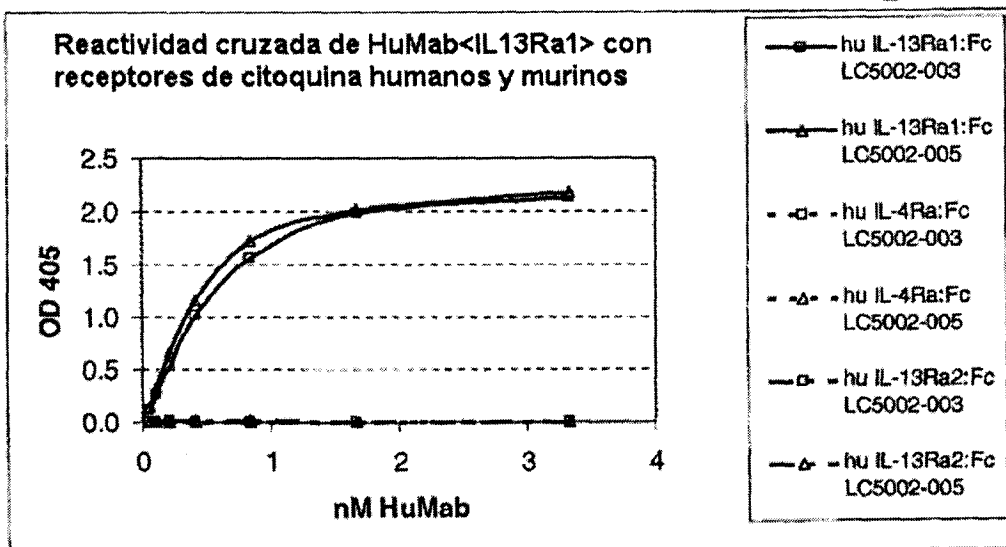


Fig. 4



144

~~143~~
143

TRADUCCION OFICIAL No. 2007-06-29-495
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

Colombia

Caso 22922

Declaración

Yo, el suscrito Notario Público de Basilea/Suiza, por el presente declaro que la copia adjunta llamada 'Traspaso' es una copia fiel del documento original que me ha presentado

F. Hoffmann-La Roche AG

de Basilea, Suiza,

Basilea, Suiza, este día 19-12-2005 (día diecinueve de diciembre de dos mil cinco)

Sello notarial

(firma: ilegible)

Leg. Prot. 2005 No. 377

Notario Público

Dr. Peter Kuster
Abogado y Notario
Peterskirchplatz 12
Postfach
CH-4001 Basilea

146

144

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Suiza
Este documento oficial
2. ha sido firmado por Dr. P. Kuster
3. actuando como Notario Público
4. y certificado por el sello/estampilla de (ilegible)

Certificado

5. en Basilea
6. el 5 de enero de 2006
7. por la Cancillería de Estado del Cantón de la Ciudad de Basilea
8. No. 12'027/20271
9. Sello/Estampilla
Sello de la Cancillería de Estado
de la Ciudad de Basilea
10. Firma: (ilegible)
Ruedi Eggs

MINISTERIO DE
RELACIONES
EXTERIORES
RECEIVED
257
AUTENTICADO
CUYA FIRMADO
DOCUMENTO
LAS FUNCIONES
RECEIVED
257
AUTENTICADO
CUYA FIRMADO
DOCUMENTO
LAS FUNCIONES

NO ASSUME
RESPONSABILITY
DEL TEXTO
2007 JUL -4 A 11: 50
Bm
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

147

45
45

Caso 22922

Traspaso

Yo/Nosotros, el suscrito

Josef Endl, biólogo, ciudadano alemán
Ulmenstrasse 12, D-82362 Weilheim, Alemania

María Elena Fuentes, bióloga, ciudadana de los EU
1490 Bittern Drive, Sunnyvale, California 94087, USA

Yvo Graus, científico, ciudadano holandés
Werdorperwaard 3, NL-3984 PR Odijk, Holanda

Adelbert Grossmann, bioquímico, ciudadano alemán
Heimgartenstrasse 1, D-82436 Eglfing, Alemania

Sebastián Neumann, biólogo, ciudadano alemán
Eisvogelstrasse 25, D-82362 Weilheim, Alemania

Paul Parren, científico, ciudadano holandés
Werdorperwaard 17, NL-3984 Odijk, Holanda

Frank Rebers, científico, ciudadano holandés
Adriaan Menninckkwartier 34, NL-3554 CT Utrecht, Holanda

Joerg Thomas Regula, biólogo, ciudadano alemán
Lierstrasse 15, D-80639 Muenchen, Alemania

~~146~~
146

Ralf Schumacher, biólogo, ciudadano alemán
Hochfeldstrasse 78, D-82377 Penzberg, Alemania

Stefan Seeber, biólogo, ciudadano alemán
Saalanger 34, D-82377 Penzberg, Alemania

Jan Olaf Stracke, químico, ciudadano alemán
Bruneckerstrasse 7, D-81373 Muenchen, Alemania

Kay-Gunnar Stubenrauch, químico, ciudadano alemán
An der Freiheit 105, D-82377 Penzberg, Alemania

Jan van de Winkel, científico, ciudadano holandés
Verlengde Slotlaan 80, NL-3707 CK Zeist, Holanda

Martine van Vugt, científico, ciudadano holandés
Fluweelmos 6, NL-3994 KR Houten, Holanda

Sandra Vereecken-Verploegen, científico, ciudadano holandés
Hesselaan 19, NL-3431 CD Nieuwegein, Holanda

CEDENTE(S), por el presente declaro que soy/somos el inventor(es)
único/conjunto de la invención llamada:

Anticuerpos frente al receptor alfa-1 de la IL-13 y usos de los mismos

para la cual la primera solicitud(es) se presentó así:

149

147
197

<u>País</u>	<u>Fecha de presentación</u>	<u>No. Serial</u>
22922 EP	03.01.2005	05000003.3
22922 EP1	03.02.2005	05002229.2

y que por una causa contractual adecuada, el recibo y suficiencia de lo cual se reconoce por el presente, yo/nosotros hemos inventado, cedido y transferido todos los derechos y título a y de dicha invención y de dicha solicitud(es) en todos los países del mundo al CESIONARIO:

F. Hoffmann-La Roche AG
Grenzacherstrasse 124,
CH-4070 Basel (Suiza)

La presente cesión es para, pero no se limita a, los siguientes países:

Argentina, Australia, Austria, Bélgica, Brasil, Canadá, Chile, Colombia, República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Irlanda, Israel, Italia, Japón, Kazakhstán, Corea, Luxemburgo, México, Mónaco, Holanda, Nueva Zelanda, Noruega, Pakistán, República Popular China, Filipinas, Polonia, Portugal, Rusia, Arabia Saudita, Sur Africa, España, Suecia, Suiza, Taiwán, Turquía, Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte, Ucrania, Uruguay, EE.UU., Venezuela.

En virtud de esta cesión dicho CESIONARIO tiene pleno poder para solicitar y obtener en su propio nombre o en cualquier otro nombre y para sus propios fines y cuenta PATENTE DE INVENCION en todo el mundo, especialmente en los países anteriormente nombrados, y a reivindicar el derecho de prioridad de la

148

primera solicitud(es) presentada en el país (países) anteriormente nombrado de acuerdo con las convenciones internacionales.

Se requiere notarización

Firmado en

el

Josef Endl
Adelbert Grossmann
Sebastián Neumann
Joerg Thomas Regula
Ralf Schumacher
Stefan Seeber
Jan Olaf Stracke
Kay-Gunnar Stubenrauch

Firmado en

el

María Elena Fuentes

Firmado en Utrecht

el 25 de noviembre de 2005

(firma: ilegible)
(firma: ilegible)
(firma: ilegible)
(firma: ilegible)
(firma: ilegible)
(firma: ilegible)

Yvo Graus
Paul Parren
Frank Rebers
Jan van de Winkel
Martine van Vugt
Sandra Vereecken-Verploegen

149
149

BT.JB: 993906

Visto por mí, el señor Bart Herman Theodor Terhorst, Notario Público en Utrecht, Holanda, para la legalización de las firmas sobre el documento adjunto, de:

1. Señor Ivo M. F. Graus,
nacido en Velsen, Holanda, el 1 de marzo de 1963 (licencia de conducción número 3114127438);
2. Señor Paul Willem Henri Ida Parren,
nacido en Roermond, Holanda, el 30 de abril de 1963 (pasaporte número NB5216950);
3. Señor Johannes Gerardus Joseph van de Winkel,
nacido en Venray, Holanda, el 1 de marzo de 1961 (pasaporte número ND2487742);
4. Señor Frank E. M. Rebers,
nacido en Sliedrecht, Holanda, el 15 de octubre de 1968 (licencia de conducción número 3206168425);
5. Señora Martine Jannigje van Vugt,
nacida en Werkendam, Holanda, el 3 de marzo de 1970 (pasaporte número M10760556);
6. Señora Sandra Alexandra Bernadina Wilhelmina Verploegen,
nacida en Wijchen, Holanda, el 22 de agosto de 1971 (licencia de conducción número 3183521253).

Firmado en Utrecht el 25 de noviembre de 2005

Sello Notarial.

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 29 de junio de 2007, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA
Anita Escobar de Tamayo
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

Observaciones:

185
188
151

TRADUCCION OFICIAL No. 2007-06-29-496
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

Colombia

Caso 22922

Declaración

Yo, el suscrito Notario Público de Basilea/Suiza, por el presente declaro que la copia adjunta llamada 'Traspaso' es una copia fiel del documento original que me ha presentado

F. Hoffmann-La Roche AG

de Basilea, Suiza,

Basilea, Suiza, este día 13-12-2005 (día trece de diciembre de dos mil cinco)

Sello notarial

Leg. Prot. 2005 No. 368

(firma: ilegible)

Notario Público

Dr. Peter Kuster
Abogado y Notario
Peterskirchplatz 12
Postfach
CH-4001 Basilea

158

138
138
152

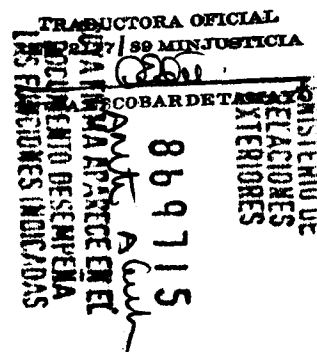
APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Suiza
Este documento oficial
2. ha sido firmado por Dr. P. Kuster
3. actuando como Notario (ilegible)
4. lleva el sello/estampilla de (ilegible)

CERTIFICADO

5. en Basilea
6. el día 14 de diciembre de 2005
7. por la Cancillería de Estado del Cantón de la Ciudad de Basilea
8. No. (ilegible)'861/20'038
9. Sello/Estampilla
Sello de la Cancillería de la Ciudad
10. Firma (ilegible)
Heidi Fischer



NO ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO
2007 JUL -5 A 10-07
Bcm
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

657

157
157
153

Caso 22922

Traspaso

Yo/Nosotros, el suscrito

Josef Endl, biólogo, ciudadano alemán
Ulmenstrasse 12, D-82362 Weilheim, Alemania

María Elena Fuentes, bióloga, ciudadana de los EU
1490 Bittern Drive, Sunnyvale, California 94087, USA

Yvo Graus, científico, ciudadano holandés
Werdorperwaard 3, NL-3984 PR Odijk, Holanda

Adelbert Grossmann, bioquímico, ciudadano alemán
Heimgartenstrasse 1, D-82436 Eglfing, Alemania

Sebastián Neumann, biólogo, ciudadano alemán
Eisvogelstrasse 25, D-82362 Weilheim, Alemania

Paul Parren, científico, ciudadano holandés
Werdorperwaard 17, NL-3984 Odijk, Holanda

Frank Rebers, científico, ciudadano holandés
Adriaan Menninckkwartier 34, NL-3554 CT Utrecht, Holanda

Joerg Thomas Regula, biólogo, ciudadano alemán
Lierstrasse 15, D-80639 Muenchen, Alemania

158
158
159

Ralf Schumacher, biólogo, ciudadano alemán
Hochfeldstrasse 78, D-82377 Penzberg, Alemania

Stefan Seeber, biólogo, ciudadano alemán
Saalanger 34, D-82377 Penzberg, Alemania

Jan Olaf Stracke, químico, ciudadano alemán
Bruneckerstrasse 7, D-81373 Muenchen, Alemania

Kay-Gunnar Stubenrauch, químico, ciudadano alemán
An der Freiheit 105, D-82377 Penzberg, Alemania

Jan van de Winkel, científico, ciudadano holandés
Verlengde Slotlaan 80, NL-3707 CK Zeist, Holanda

Martine van Vugt, científico, ciudadano holandés
Fluweelmos 6, NL-3994 KR Houten, Holanda

Sandra Vereecken-Verploegen, científico, ciudadano holandés
Hesselaan 19, NL-3431 CD Nieuwegein, Holanda

CEDENTE(S), por el presente declaro que soy/somos el inventor(es) único/conjunto de la invención llamada:

Anticuerpos frente al receptor alfa-1 de la IL-13 y usos de los mismos

para la cual la primera solicitud(es) se presentó así:

159
159
155

<u>País</u>	<u>Fecha de presentación</u>	<u>No. Serial</u>
22922 EP	03.01.2005	05000003.3
22922 EP1	03.02.2005	05002229.2

y que por una causa contractual adecuada, el recibo y suficiencia de lo cual se reconoce por el presente, yo/nosotros hemos inventado, cedido y transferido todos los derechos y título a y de dicha invención y de dicha solicitud(es) en todos los países del mundo al CESIONARIO:

F. Hoffmann-La Roche AG
Grenzacherstrasse 124,
CH-4070 Basel (Suiza)

La presente cesión es para, pero no se limita a, los siguientes países:

Argentina, Australia, Austria, Bélgica, Brasil, Canadá, Chile, Colombia, República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Irlanda, Israel, Italia, Japón, Kazakhstán, Corea, Luxemburgo, México, Mónaco, Holanda, Nueva Zelanda, Noruega, Pakistán, República Popular China, Filipinas, Polonia, Portugal, Rusia, Arabia Saudita, Sur Africa, España, Suecia, Suiza, Taiwán, Turquía, Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte, Ucrania, Uruguay, EE.UU., Venezuela.

En virtud de esta cesión dicho CESIONARIO tiene pleno poder para solicitar y obtener en su propio nombre o en cualquier otro nombre y para sus propios fines y cuenta PATENTE DE INVENCION en todo el mundo, especialmente en los países anteriormente nombrados, y a reivindicar el derecho de prioridad de la primera solicitud(es) presentada en el país (países) anteriormente nombrado de acuerdo con las convenciones internacionales.

160
160
136

Se requiere notarización

Firmado en

el

(firma: ilegible)	Josef Ende	Penzberg, 23 de noviembre de 2005
(firma: ilegible)	Adelbert Grossmann	Penzberg, 23 de noviembre de 2005
(firma: ilegible)	Sebastián Neumann	Penzberg, 10 de noviembre de 2005
(firma: ilegible)	Joerg Thomas Regula	Penzberg, 10 de noviembre de 2005
(firma: ilegible)	Ralf Schumacher	Penzberg, 1 de noviembre de 2005
(firma: ilegible)	Stefan Seeber	Penzberg, 10 de noviembre de 2005
(firma: ilegible)	Jan Olaf Stracke	Penzberg, 10 de noviembre de 2005
(firma: ilegible)	Kay-Gunnar Stubenrauch	Penzberg, 1 de noviembre de 2005

Firmado en

el

María Elena Fuentes

Firmado en

el

Yvo Graus

Paul Parren

Frank Rebers

Jan van de Winkel

Martine van Vugt

Sandra Vereecken-Verploegen

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 29 de junio de 2007, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA
Anita Escobar de Tamayo
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

161
16T
157

TRADUCCIÓN OFICIAL

DE DOCUMENTOS ESCRITOS EN ALEMÁN

TRÁMITE DE AUTENTICACIONES NOTARIALES DE UN TRASPASO

Autenticaciones Notariales de un traspaso, Caso 22922 Colombia. (F. HOFFMANN – LA ROCHE AG), documentos escritos en alemán. (firmas: ilegibles)

EJECUCIÓN

Certificado Verificado y Autenticado
en la ciudad de Penzberg, Alemania,
los días 10 y 23 de noviembre y 1º de diciembre de 2005
(firma: Nikolaus Klöcker)
Notario

Esta traducción se realizó a solicitud del interesado a los 4 días del mes de julio de 2007.

G. A. Forster

GERHARD ALEXANDER
FORSTER MORENO
Traductor e Interpreté Oficial
Resolución 0622 - Minjusticia 1995

Gerhard Alexander Forster Moreno
C.C. No. 79.392.484 de Bogotá
Traductor e Intérprete Oficial
Alemán e Inglés

-- 0 --

Registro notarial No. K 2058 / 2005

del 10 de noviembre de 2005 / li

Yo autentico las firmas antecedentes, otorgadas ante mí de

Señor Dr. Sebastian Moritz Georg Werner Neumann, nacido el 26 de marzo de 1973, Biólogo, Eisvogelstraße 25, 82362 Weilheim,
identificado mediante documento oficial de identidad con fotografía,

GERHARD ALEXANDER
FORSTER MORENO
Traductor e Interpreté Oficial
Resolución 0622 - Minjusticia 1995

164

162
165
158

Señor Dr. Jan Olaf Stracke, nacido el 7 de septiembre de 1971, Químico,
Seeshaupter Straße 18 b, 82377 Penzberg,
identificado mediante documento oficial de identidad con fotografía,

Señor Dr. Jörg Thomas Regula, nacido el 5 de abril de 1971, Químico, Laerstr.
15, 80639 Munich,
identificado mediante documento oficial de identidad con fotografía, y

Señor Dr. Stefan Seeber, nacido el 22 de septiembre de 1960, Biólogo
Diplomado, Breunetsrieder Weg, 82377 Penzberg,
identificado mediante documento oficial de identidad con fotografía,

Penzberg, 10 de noviembre de 2005

(fdo). ilegible.

Nikolaus Klöcker,

Notario en Weilheim en OB

Con aposición del sello oficial redondo con escudo de Nikolaus Klöcker - Notario
en Weilheim en OB.

-- 0 --

Registro notarial No. K 2213 / 2005

del 23 de noviembre de 2005 / li

165

163
159

Yo autentico las firmas antecedentes, otorgadas ante mí de

Señor Dr. Josef Georg Endl, nacido el 31 de julio de 1950, Biólogo, Ulmenstraße
12, 82362 Weilheim,
identificado mediante documento oficial de identidad con fotografía, y

Señor Dr. Adelbert Tom Grossmann, nacido el 17 de noviembre de 1952,
Bioquímico, Heimgartenstraße 1, 82436 Eglfing,
identificado mediante documento oficial de identidad con fotografía.

Penzberg, 23 de noviembre de 2005

(fdo). ilegible.

Nikolaus Klöcker,

Notario en Weilheim en OB

Con aposición del sello oficial redondo con escudo de Nikolaus Klöcker - Notario
en Weilheim en OB.

-- 0 --

Registro notarial No. K 2298 / 2005

del 1º de diciembre de 2005 / li

Yo autentico las firmas antecedentes, otorgadas ante mí de

GERHARD ALEXANDER
FORSTER MORENO
Traductor e Interpreté Oficial
Resolución 0622 - Minjusticia 1995

166

169
164
160

Señor Dr. Ralf Werner Franz Schumacher, nacido el 12 de febrero de 1963,
Biólogo, Hochfeldstraße 78, 82377 Penzberg,
identificado mediante documento oficial de identidad con fotografía, y

Señor Dr. Kay-Gunnar Stubenrauch, nacido el 21 de agosto de 1971,
Bioquímico, An der Freiheit 105, 82377 Penzberg,
identificado mediante documento oficial de identidad con fotografía.

Penzberg, 1º de diciembre de 2005

(fdo). ilegible.

Nikolaus Klöcker,

Notario en Weilheim en OB

Con aposición del sello oficial redondo con escudo de Nikolaus Klöcker - Notario
en Weilheim en OB.

167



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA
RELACIÓN DE ANEXOS

Dependencia:	Fecha:	Recorrido:
Propiedad Industrial	2007 / 07 / 31 / AAAA MM DD 16:20:57	
Tipo de Radicación: Entrada: ☐ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐		
Radicador:		Planilla:

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	07-078 100	161	16
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Ítem	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Ítem	Soporte Documental
7	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
~~16~~	Otro

Observaciones:

Declaración: "Assignment", copia del documento original

Sello: Peter Kuster Fud * Notarius Basiliensis

14 Dez 2005

172
172
162

TRADUCCION OFICIAL No. 2007-06-29-497
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

Colombia

Caso 22922

Declaración

Yo, el suscrito Notario Público de Basilea/Suiza, por el presente declaro que la copia adjunta llamada 'Traspaso' es una copia fiel del documento original que me ha presentado

F. Hoffmann-La Roche AG

de Basilea, Suiza,

Basilea, Suiza, este día 04-01-2006 (día cuatro de enero de dos mil seis)

Sello notarial

(firma: ilegible)

Leg. Prot. 2006 No. 7

Notario Público

Dr. Peter Kuster
Abogado y Notario
Peterskirchplatz 12
Postfach
CH-4001 Basilea

175

123
173
163

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Suiza
Este documento oficial
2. ha sido firmado por Dr. P. Kuster
3. actuando como Notario (ilegible)
4. lleva el sello/estampilla de (ilegible)

CERTIFICADO

5. en Basilea
6. el día 5 de enero de 2006
7. por la Cancillería de Estado del Cantón de la Ciudad de Basilea
8. No. 131/190
9. Sello/Estampilla
Sello de la Cancillería de la Ciudad
10. Firma (ilegible)
Heidi Fischer

DUCTORA OFICIAL
1177/89 MINJUSTICIA
Escobar
NITA ESCOBAR DE TAMAYO

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES
b23034
Cuya firma aparece en el
documento de semper
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
2007 JUL 3 A 10:39
Bam
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

Traspaso

Yo/Nosotros, el suscrito

Josef Endl, biólogo, ciudadano alemán
Ulmenstrasse 12, D-82362 Weilheim, Alemania

Maria Elena Fuentes, bióloga, ciudadana de los EU
1490 Bittern Drive, Sunnyvale, California 94087, USA

Yvo Graus, científico, ciudadano holandés
Werdorperwaard 3, NL-3984 PR Odijk, Holanda

Adelbert Grossmann, bioquímico, ciudadano alemán
Heimgartenstrasse 1, D-82436 Eglfing, Alemania

Sebastián Neumann, biólogo, ciudadano alemán
Eisvogelstrasse 25, D-82362 Weilheim, Alemania

Paul Parren, científico, ciudadano holandés
Werdorperwaard 17, NL-3984 Odijk, Holanda

Frank Rebers, científico, ciudadano holandés
Adriaan Menninckkwartier 34, NL-3554 CT Utrecht, Holanda

Joerg Thomas Regula, biólogo, ciudadano alemán
Lierstrasse 15, D-80639 Muenchen, Alemania

175
175
165

Ralf Schumacher, biólogo, ciudadano alemán
Hochfeldstrasse 78, D-82377 Penzberg, Alemania

Stefan Seeber, biólogo, ciudadano alemán
Saalanger 34, D-82377 Penzberg, Alemania

Jan Olaf Stracke, químico, ciudadano alemán
Bruneckerstrasse 7, D-81373 Muenchen, Alemania

Kay-Gunnar Stubenrauch, químico, ciudadano alemán
An der Freiheit 105, D-82377 Penzberg, Alemania

Jan van de Winkel, científico, ciudadano holandés
Verlengde Slotlaan 80, NL-3707 CK Zeist, Holanda

Martine van Vugt, científico, ciudadano holandés
Fluweelmos 6, NL-3994 KR Houten, Holanda

Sandra Vereecken-Verploegen, científico, ciudadano holandés
Hesselaan 19, NL-3431 CD Nieuwegein, Holanda

CEDENTE(S), por el presente declaro que soy/somos el inventor(es)
único/conjunto de la invención llamada:

Anticuerpos frente al receptor alfa-1 de la IL-13 y usos de los mismos

para la cual la primera solicitud(es) se presentó así:

170

176
176
176

<u>País</u>	<u>Fecha de presentación</u>	<u>No. Serial</u>
22922 EP	03.01.2005	05000003.3
22922 EP1	03.02.2005	05002229.2

y que por una causa contractual adecuada, el recibo y suficiencia de lo cual se reconoce por el presente, yo/nosotros hemos inventado, cedido y transferido todos los derechos y título a y de dicha invención y de dicha solicitud(es) en todos los países del mundo al CESIONARIO:

F. Hoffmann-La Roche AG
Grenzacherstrasse 124,
CH-4070 Basel (Suiza)

La presente cesión es para, pero no se limita a, los siguientes países:

Argentina, Australia, Austria, Bélgica, Brasil, Canadá, Chile, Colombia, República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Irlanda, Israel, Italia, Japón, Kazakhstán, Corea, Luxemburgo, México, Mónaco, Holanda, Nueva Zelanda, Noruega, Pakistán, República Popular China, Filipinas, Polonia, Portugal, Rusia, Arabia Saudita, Sur Africa, España, Suecia, Suiza, Taiwán, Turquía, Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte, Ucrania, Uruguay, EE.UU., Venezuela.

En virtud de esta cesión dicho CESIONARIO tiene pleno poder para solicitar y obtener en su propio nombre o en cualquier otro nombre y para sus propios fines y cuenta PATENTE DE INVENCION en todo el mundo, especialmente en los países anteriormente nombrados, y a reivindicar el derecho de prioridad de la

176

177
177
187

primera solicitud(es) presentada en el país (países) anteriormente nombrado de acuerdo con las convenciones internacionales.

Se requiere notarización

Firmado en

el

Josef Endl
Adelbert Grossmann
Sebastián Neumann
Joerg Thomas Regula
Ralf Schumacher
Stefan Seeber
Jan Olaf Stracke
Kay-Gunnar Stubenrauch

Palo Alto, California
(firma: ilegible)

el 18 de noviembre de 2005
María Elena Fuentes

Firmado en

el

Yvo Graus
Paul Parren
Frank Rebers
Jan van de Winkel
Martine van Vugt
Sandra Vereecken-Verploegen

178
178
178

RECONOCIMIENTO PARA TODOS LOS FINES DE CALIFORNIA

Estado de California)
Condado de Santa Clara) ss.

El 18 de noviembre de 2005, ante mí, Julia A. Dalla, Notario Público, compareció personalmente María Elena Fuentes

☐ a quien conozco personalmente – O ☒ me demostró con base en evidencia satisfactoria que es la persona cuyo nombre está suscrito en el documento adjunto y reconoció ante mí que ella firmó el mismo como persona autorizada, y que por medio de su firma en el documento la persona, o la entidad en nombre de quien la persona actúo, firmó el documento.

TESTIFICA mi firma y sello oficial.

(firma: ilegible)

Firma del Notario Público

Julie A. Dalla
Comisión # 1503939
Notario Público – California
Condado de Santa Clara
Mi Comisión Expira el 27 de julio de 2008

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 29 de junio de 2007, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MIN JUSTICIA
Anita Escobar de Tamayo
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS
Dependencia: <i>Propiedad Industrial</i>	Fecha: <i>2007 / 07 / 31</i> AAAA MM DD <i>16:20:53</i>
Tipo de Radicación: Entrada: ☐ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐	
Radicador:	Planilla:

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	07-078100	169	16
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
7	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
~~16~~	~~Otro~~

2	Observaciones: Declaración, "Assignment"; copia del documento original. Selb: Peter Kuster Jud * Notarius Basiliensis. 5 Jan 2006
---	--

170 104
104

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-078100-00000-0000

Fecha: 2007-07-31 16:20:57 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTE DE INVENCION Eje: 379 FASENACIONAL II
Act. 411 PRESENTACION Folios: 186



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

PATENTE DE INVENCION

[x] ✓

MODELO DE UTILIDAD []

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [x] 1 ✓
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [x] 1 ✓
- ◆ Descripción de la invención [x] 50 ✓
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes [x] 143 ✓
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [x] 2 ✓

COMPLETA [x]

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Claudia M Newac
Firma Responsable

Fecha _____
Conmutador: 3 82 08 40

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10

Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Folio 188

2020
Bogotá D.C.,

Doctor(a)
LLOREDA RICAURTE ALICIA
Apoderado(a) y/o Representante de
F HOFFMANN LA ROCHE AG

REFERENCIA	Radicación No.	7 78100
	Solicitud internacional	PCT/EP2006/000005
	Fecha inicio fase nacional	03/08/07
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	416
	Oficio No.	3889
	Folios	1

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

plase
dado en Bogotá DC,

20 SET. 2007

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

jfernand