Industria y Cor

SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-145744- -00000-0000

Fecha: 2013-06-19 11:31:17 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 663

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCIÓN

21. **EXPEDIENTE No.** _____

54. **TÍTULO** ANTICUERPOS NEUTRALIZADORES ANTI-CCL20

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** _____

71. **SOLICITANTE** TOSHIO IMAI y OTROS

DOMICILIO JAPON, respectivamente

74. **APODERADO** LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. **BOGOTÁ, D.C.,** _____

(FORMA P-10)

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-145744- -00000-0000

Fecha: 2013-06-19 11:31:17 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 663

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención	☐ Patente de Modelo de Utilidad
		☐ Capítulo I	☒ Capitulo II

2 DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)

Solicitud Internacional No.	PCT/US2011/061525	Fecha	2011/11/18
Publicación Internacional No.	WO 2012/068540 A3	Fecha	2012/05/24

3 TÍTULO DE LA INVENCIÓN

ANTICUERPOS NEUTRALIZADORES ANTI-CCL20

4 CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)

C07K 016/000, C07H 021/004, A61K 039/395

5 SOLICITANTE (S) ☒ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria

APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN	TIPO
1. IMAI	TOSHIO		

6 DATOS DEL SOLICITANTE

DIRECCIÓN	84, Teranouchidori-omiyanishiiru-Oinokumacho, Kamigyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto, 602-8405, Japon	No. TELÉFONO	3 47 36 11
CIUDAD	Kyoto	CORREO ELECTRÓNICO	clientes@cavelier.com
DEPARTAMENTO/ESTADO		NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN	
PAÍS DE RESIDENCIA	Japón		Japón

7 INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria

APELLIDOS	NOMBRES	NACIONALIDAD
1. IMAI	Toshio	Japonés
2. KLINE	James Bradford	Estadounidense
3. KAWANO	Tetsu	Japonés
4. GRASSO	Luigi	Estadounidense
5. SAKAMOTO	Yoshimasa	Japonés

DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:

8 DATOS INVENTOR (ES)

PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
1. Japón		Kobe	C-246, Portopia Plaza, 6-14, Minatojimanakamachi, Chuo-ku, Kobe, Hyogo 650-0046, Japón
2. Estados Unidos de América	Pennsylvania	Morgantown	29 Lenape Drive, Morgantown, Pennsylvania 19543, Estados Unidos de América
3. Japón		Kobe	3-25-8 Nishiokamoto, Higashinadaku, Kobe, Hyogo 658-0073, Japón
4. Estados Unidos de América	Pennsylvania	Bryn Mawr	403 Barbara Lane, Bryn Mawr, Pennsylvania 19010, Estados Unidos de América
5. Japón		Nishinomiya	20-18-408, Koshienguchi-kitamachi,

			Nishinomiya, Hyogo 663-8112, Japón

OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S) INVENTOR(ES)

☒ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.

9 ☐ **REPRESENTANTE LEGAL** ☒ **APODERADO**

APELLIDOS	NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
De Páez	Luz Clemencia	C.C . 35.456.344 T.P . 23.555

DIRECCIÓN	Carrera 4ª No. 72-35	No. TELÉFONO	3 47 36 11
CIUDAD	BOGOTA	CORREO ELECTRÓNICO	cavelier@cavelier.com
PAÍS	COLOMBIA	No. RADICACIÓN DE PROTOCOLO DE PODER GENERAL	

10 **DECLARACIONES DE PRIORIDAD** ☒ SI ☐ NO

(33) PAÍS DE ORIGEN	CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
U.S.A.	US	61/415,614	2010/11/19

11 **DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS**

Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.

☐ SI ☐ NO

Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.

12 **DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES**

Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.

☐ SI ☐ NO

Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.

13 **REDUCCIÓN DE TASAS**

Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.

☐ SI ☐ NO

Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.

Micro, pequeñas y medianas empresas ☐

Universidades públicas o privadas ☐

Entidades sin ánimo de lucro ☐

Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos

14 **AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA** ☐ SI ☐ NO

Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.

15	**COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO**	**No.** 13-0059707	**Fecha:** 2013/06/18

16 **FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL**
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)

Nombre del Firmante **LUZ CLEMENCIA DE PAEZ**	Firma Luz Clemencia de Páez TP 23555
C.C 35.456.344 de Usaquén	Tarjeta Profesional 23.555

SCT\SCT\SDC\ID-AF244582\WPC20279

17	ANEXOS

Documentación Técnica
Solicitud Internacional en castellano

1. ☒ Descripción N° de folios: 190
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 59
3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 50
4. ☒ Resumen.
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.
6. ☒ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.
7. ☐ Arte final 12 x 12.
8. ☐ Anexo formato digital.

☒ Traducción al español de los anexos presentados junto con el Informe del Examen Preliminar Internacional.

☒ **Forma PCT/IB/306.** Notificación correspondiente a la inscripción del cambio de dirección del inventor **Toshio IMAI.**

☒ **Forma PCT/IB/306.** Notificación correspondiente a la inscripción del cambio de nombre del inventor **James Bradford KLINE.**

☒ **Forma PCT/IB/306.** Notificación correspondiente a la inscripción del cambio de nombre del inventor **Kenzo MURAMOTO**.

☒ **Dos (2) Formas PCT/IB/306.** Notificación correspondiente a la inscripción del cambio de nombre y dirección del inventor **Tatsuo HORIZOE.**

Documentación Jurídica

9. ☐ Poderes, si fuera el caso.
10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.
11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.
12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.
13. **Reducción de tasas**

Micro, pequeñas o medianas empresas

☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior. o en su defecto prueba documental idónea.

☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.

Universidades públicas o privadas

☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación

Entidades sin ánimo de lucro

☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.
☒ Dos (2) Hojas de información complementaria.
☐ Otros, especificar

14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por $500.000.
15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.
17. ☐ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.

4

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

HOJA DE INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA PCT

1	(12) TIPO DE SOLICITUD	NUMERO DE RADICACIÓN
☒ Patente de invención		FECHA DE PRESENTACIÓN
☐ Patente de Modelo de Utilidad		

4 (71) SOLICITANTE (S)

APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN	TIPO
2. KLINE	James Bradford		
3. KAWANO	Tetsu		
4. GRASSO	Luigi		
5. SAKAMOTO	Yoshimasa		
6. SPIDEL	Jared		
7. NISHIMURA	Miyuki		
8. MURAMOTO	Kenzo		
9. HORIZOE	Tatsuo		

5 DATOS DEL SOLICITANTE

PAÍS DE RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
2. Estados Unidos de América	Pennsylvania	Morgantown	29 Lenape Drive, Morgantown, Pennsylvania 19543, Estados Unidos de América
3. Japón		Kobe	3-25-8 Nishiokamoto, Higashinadaku, Kobe, Hyogo 658-0073, Japón
4. Estados Unidos de América	Pennsylvania	Bryn Mawr	403 Barbara Lane, Bryn Mawr, Pennsylvania 19010, Estados Unidos de América
5. Japón		Nishinomiya	20-18-408, Koshienguchi-kitamachi, Nishinomiya, Hyogo 663-8112, Japón
6. Estados Unidos de América	Pennsylvania	Downingtown	100 Wildbrier Rd, Downingtown, Pennsylvania 19335, Estados Unidos de América
7. Japón		Nada-ku	B 707, 2-3-1 Sinoharaobanoyama-cho, Nada-ku, Hyogo 657-0015, Japón
8. Japón		Tsukuba-shi	4-219 Ninomiya, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0051, Japón
9. Japón		Moriya-shi	5-18-4, Matsugaoka, Moriya-shi, Ibaraki, 302-0127, Japón

TELÉFONO	FAX	E-MAIL	NACIONALIDAD

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

HOJA DE INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA PCT

1	(12) TIPO DE SOLICITUD	NUMERO DE RADICACIÓN
☒ Patente de invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad		FECHA DE PRESENTACIÓN

4 (71) SOLICITANTE (S)

APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN	TIPO

5 DATOS DEL SOLICITANTE

PAÍS DE RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
TELÉFONO	**FAX**	**E-MAIL**	**NACIONALIDAD**

6 (72) INVENTOR (ES)

APELLIDOS	NOMBRE	NACIONALIDAD
6. SPIDEL	Jared	Estadounidense
7. NISHIMURA	Miyuki	Japonés
8. MURAMOTO	Kenzo	Japonés
9. HORIZOE	Tatsuo	Japonés

7 DATOS INVENTOR (ES)

DIRECCIÓN	CIUDAD	DEPARTAMENTO/ESTADO	PAÍS RESIDENCIA
6. 100 Wildbrier Rd, Downingtown, Pennsylvania 19335, Estados Unidos de América	Downingtown	Pennsylvania	Estados Unidos de América
7. B 707, 2-3-1 Sinoharaobanoyama-cho, Nada-ku, Hyogo 657-0015, Japón	Nada-ku		Japón
8. 4-219 Ninomiya, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0051, Japón	Tsukuba-shi		Japón
9. 5-18-4, Matsugaoka, Moriya-shi, Ibaraki, 302-0127, Japón	Moriya-shi		Japón

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
24 May 2012 (24.05.2012)

WIPO | PCT

(10) International Publication Number
WO 2012/068540 A3

(51) International Patent Classification:
C07K 16/00 (2006.01) *C07H 21/04* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2011/061525

(22) International Filing Date:
18 November 2011 (18.11.2011)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/415,614 19 November 2010 (19.11.2010) US

(72) Inventors; and
(71) Applicants : **IMAI, Toshio** [JP/JP]; C-2406, Portopia Plaza, 6-14, Minatojimanakamachi, Chuo-ku, Kobe, Hyogo 650-0046 (JP). **KLINE, Brad** [US/US]; 29 Lenape Drive, Morgantown, Pennsylvania 19543 (US). **KAWANO, Tetsu** [JP/JP]; 3-25-8 Nishiokamoto, Higashinadaku, Kobe, Hyogo 658-0073 (JP). **GRASSO, Luigi** [US/US]; 403 Barbara Lane, Bryn Mawr, Pennsylvania 19010 (US). **SAKAMOTO, Yoshimasa** [JP/JP]; 20-18-408, Koshienguchi-kitamachi, Nishinomiya, Hyogo 663-8112 (JP). **SPIDEL, Jared** [US/US]; 100 Wildbrier Rd, Downingtown, Pennsylvania 19335 (US). **NISHIMURA, Miyuki** [JP/JP]; B-707, 2-3-1 Sinoharaobanoyama-cho, Nada-ku, Kobe, Hyogo 657-0015 (JP). **MURMOTO, Kenzo** [JP/JP]; 4-2-19 Ninomiya, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0051 (JP). **HORIZOE, Tastuo** [JP/JP]; 1-7-4-604 Amakubo, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0005 (JP).

(74) Agents: **GUNNISON, Jane T.** et al.; Ropes & Gray LLP, 1211 Avenue of the Americas, New York, New York 10036 (US).

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

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

Published:

— *with international search report (Art. 21(3))*

— *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))*

(88) Date of publication of the international search report:
27 September 2012

WO 2012/068540 A3

(54) Title: NEUTRALIZING ANTI-CCL20 ANTIBODIES

(57) Abstract: The disclosure provides humanized, chimeric and murine antibodies that specificity bind to the human CC chemokine ligand 20 (CCL20). The disclosure further provides heavy chains and light chains of the antibodies, as well as isolated nucleic acids, recombinant vectors and host cells that comprise a sequence encoding a heavy chain and/or light chain of the antibodies. Further disclosed are methods of using the anti-CCL20 antibodies for treating disorders including inflammatory and autoimmune disorders as well as cancers.

ANTICUERPOS NEUTRALIZADORES ANTI-CCL20

[0001] Esta solicitud reivindica prioridad sobre la Solicitud de Patente Provisoria de los EE. UU. n.º 61/415614, que fue presentada el 19 de noviembre de 2010. La descripción de esta solicitud se incorpora por completo en la presente a modo de referencia.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

[0002] La presente invención se relaciona con nuevos anticuerpos humanizados, quiméricos y murinos que están dirigidos específicamente contra el ligando de la quimioquina humana CC 20 (CCL20). Los anticuerpos humanizados de la invención son particularmente apropiados como agentes terapéuticos para tratar enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[0003] El sistema inmune es un circuito biológico muy sofisticado que opera en el cuerpo para distinguir los componentes no propios (por ejemplo, las sustancias o los organismos extraños) y los componentes propios. La detección de componentes no propios en el cuerpo puede dar como resultado una inflamación, en la cual participan diversos componentes celulares y moleculares para responder a los acontecimientos potencialmente nocivos que son provocados por la sustancia o el organismo extraño. Aunque el proceso inflamatorio ayuda a

proteger el cuerpo de un ataque externo, la desregulación del sistema inmune puede tener consecuencias negativas, tales como un ataque a componentes propios, como es el caso de las enfermedades autoinmunes. Mediante la alteración de la función de las moléculas inflamatorias, tales como las quimioquinas, puede reducirse el inicio y el progreso de los trastornos relacionados con las respuestas inmunes/inflamatorias.

[0004] Las quimioquinas son una familia de proteínas pequeñas (de 8-10 kDa) que cumplen una función fundamental en la inflamación. Durante el proceso inflamatorio, las quimioquinas se producen localmente en el sitio en el que se encuentra el estímulo nocivo, donde tienen una participación central en el reclutamiento de células inmunes en las que se expresan receptores conocidos, que pueden ser receptores con siete dominios transmembrana que están ligados a la proteína G (GPCR). CCL20, que también se conoce como la quimioquina que es regulada por el hígado y por la activación (LARC), la proteína inflamatoria de los macrófagos 3 alfa (MIP-3α) o Exodus-1, es una quimioquina soluble que se expresa en las células epiteliales. Se sabe que los queratinocitos epiteliales y las células que recubren las membranas sinoviales producen grandes cantidades de CCL20 en presencia de afecciones inflamatorias y patológicas, tales como el cáncer, la psoriasis y la artritis reumática. El receptor conocido para CCL20 es el receptor de la quimioquina CC 6 (CCR6). CCL20 es la única quimioquina conocida que interactúa con CCR6. En respuesta a la señal de CCL20, las células inmunes donde se expresa CCR6, tales como las células dendríticas inmaduras (DC), las células T efectoras o de memoria y las células B, migran a los tejidos circundantes

y los infiltran, con lo que se activa la cascada inflamatoria.

[0005] Debido a que la expresión de CCL20 se encuentra significativamente incrementada en las inflamaciones que son inducidas por citoquinas inflamatorias, tales como la interleuquina 1β (IL-1β) y el factor de necrosis tumoral α (TNF-α), se cree que la interacción entre CCL20 y CCR6 cumple una función fundamental en los procesos inflamatorios patológicos.

[0006] La artritis reumática (RA) es una de las enfermedades autoinmunes más comunes. El primer signo de la RA frecuentemente es una sinovitis, que se manifiesta en forma de hinchazón y dolor en las articulaciones. Aunque todavía se desconocen los factores específicos que desencadenan la sinovitis, se cree que las células epiteliales que rodean las membranas sinoviales y los fibroblastos sinoviales son los inductores primarios de la reacción inflamatoria. El fluido sinovial de los pacientes que padecen RA actúa como un quimioatractante eficaz de los monocitos y las células T asistentes proinflamatorias 17 (Th17) humanas, que posteriormente inducen y exacerban el proceso inflamatorio de la RA. Debido a que las células reactivas de la membrana sinovial pueden producir grandes cantidades de CCL20 (particularmente bajo la influencia de la IL-1β y el TNFα) y a que CCR6 es el receptor más importante en las células Th17, se cree que la interacción entre CCL20 y CCR6 cumple una función fundamental en el proceso inflamatorio.

[0007] La interacción entre CCL20 y CCR6 también puede cumplir una función importante en determinados tipos de dermatitis. La psoriasis, por ejemplo, se inicia con un acontecimiento nocivo en la piel (que es inducido por factores ambientales

y/o genéticos), que es seguido por la infiltración de células Th17. Debido a que CCR6 se expresa en la superficie de las células Th17, de las células B, de las células dendríticas y de las células T efectoras que pueden dañar los tejidos, CCL20 puede representar el quimioatractante principal para estos tipos de células en la psoriasis. Una evidencia adicional de la importancia de la interacción entre CCL20 y CCR6 puede hallarse en estudios donde se empleó un modelo de psoriasis inducida con interleuquina 23 (IL-23) en ratones (Hedrick *et al.*, *J. Clin. Invest.* 119:2317-2329 (2009)). En este modelo, la inyección de IL-23 provoca una inflamación psoriática que depende de la interleuquina 22 (IL-22). Sin embargo, los ratones *Ccr6*$^{-/-}$ no presentaron síntomas similares a los de la psoriasis cuando se los inyectó con IL-23, lo que refleja que la presencia de CCR6 es necesaria para que se desarrolle la psoriasis.

[0008] Los queratinocitos humanos pueden producir grandes cantidades de CCL20, especialmente bajo la influencia de las citoquinas que derivan de las células Th17, es decir, la interleuquina 17 (IL-17), la IL-22 y el TNF-α. Si bien CCL20 y CCR6 son detectados con poca frecuencia en la piel normal, ambos presentan una expresión incrementada en la dermatitis atópica y en la psoriasis pustular. Puede observarse una inducción fuerte de CCL20 y una acumulación de células CCR6+ cuando se realiza un análisis inmunohistoquímico microscópico en lesiones de dermatitis humanas. Estas observaciones constituyen una evidencia adicional de la función que cumplen CCL20 y CCR6 en el proceso inflamatorio de la dermatitis.

[0009] Los agentes biológicos basados en anticuerpos monoclonales que están

disponibles en la actualidad para tratar los trastornos inmunes pueden clasificarse ampliamente en tres grupos: los inhibidores de las citoquinas de inmunoestimulación (por ejemplo, los anticuerpos monoclonales anti-TNF-α), los agentes que eliminan las células inmunes (por ejemplo, los anticuerpos monoclonales anti-CD20) y los bloqueadores de las moléculas de acceso (por ejemplo, Abatacept). Estos agentes biológicos pueden ser útiles para tratar las enfermedades inflamatorias. Sin embargo, debido a la ausencia de una respuesta primaria o a una declinación gradual en la frecuencia de la respuesta a estos tratamientos, hay una demanda urgente de agentes biológicos alternativos con mecanismos de acción novedosos, por ejemplo, para satisfacer las necesidades médicas de los pacientes que padecen trastornos que están mediados por CCL20 o por CCR6. Los anticuerpos de la presente invención son agentes biológicos alternativos de este tipo.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

[0010] La presente invención se relaciona con anticuerpos anti-CCL20 neutralizadores o con porciones de unión al antígeno de estos. En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20 es un anticuerpo anti-CCL20 humano humanizado, que puede comprender regiones de determinación de la complementariedad (CDR) provenientes de anticuerpos anti-CCL20 humano de ratón. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20 es un anticuerpo anti-CCL20 humano de ratón o quimérico o una porción de unión al antígeno de este.

[0011] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de

unión al antígeno de este, se une a CCL20 humano. En algunas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de este, no se une a CCL16 humano.

[0012] Los anticuerpos de la invención se unen específicamente a CCL20. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, se une a CCL20 de mono cangrejero y/o de macaco Rhesus y a CCL20 humano. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, no se une a CCL20 de ratón y/o de rata. En una forma de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, se une a CCL20 humano, de mono cangrejero y de macaco Rhesus, pero no se une a CCL20 de ratón o de rata.

[0013] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una afinidad de unión (K_D) por CCL20 humano que tiene un valor

- menor que 1 nM, 500 pM, 100 pM, 90 pM, 80 M, 70 pM, 60 pM o 50 pM, cuando se la determina usando un ensayo resonancia de plasmón superficial monovalente, o
- menor que 1 nM, 500 pM, 100 pM, 75 pM, 50 pM, 25 pM, 20 pM, 15 pM, 14 pM, 13 pM, 12 pM, 11 pM, 10 pM, 9 pM, 8 pM, 7 pM, 6 pM o 5 pM, cuando se la determina usando un ensayo resonancia de plasmón superficial bivalente.

En determinadas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de este, presenta una afinidad de unión por CCL20 humano que es mayor que la afinidad que presenta por CCR6 humano.

[0014] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de

unión al antígeno de este, presenta una k_a por CCL20 humano que es menor que 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40 o 30 (x 10^5 M^{-1} segundo^{-1}), según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una k_d por CCL20 humano que es menor que 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 o 3 (x 10^{-5} segundo^{-1}), según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente.

[0015] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una k_a por CCL20 de macaco Rhesus que es menor que 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40 o 30 (x 10^5 M^{-1} segundo^{-1}), según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una k_d por CCL20 de macaco Rhesus que es menor que 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 o 2 (x 10^{-5} segundo^{-1}), según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una K_D por CCL20 de macaco Rhesus que es menor que 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 o 10 pM, según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente.

[0016] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una k_a por CCL20 de mono cangrejero que es menor que 500, 400, 300, 200, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40 o 30 (x 10^5 M^{-1} segundo^{-1}), según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente. En

algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una k_d por CCL20 de mono cangrejero que es menor que 50, 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7 o 6 (x 10^{-5} segundo^{-1}), según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una K_D por CCL20 de mono cangrejero que es menor que 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16 o 15 pM, según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente.

[0017] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, se une a CCL20 humano con una EC_{50} que es menor que 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 39, 38, 37, 36, 35 o 34 pM. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, se une a CCL20 de macaco Rhesus con una EC_{50} que es menor que 500, 400, 300, 200, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 90, 80, 70, 65, 60, 59, 58, 57, 56, 55, 54, 53, 52, 51 o 50 pM. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, se une a CCL20 de mono cangrejero con una EC_{50} que es menor que 500, 400, 350, 300, 250, 200, 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 110, 109, 108, 107, 106, 105, 104, 103 o 102 pM.

[0018] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta selectividad por CCL20 humano, en comparación con otras quimioquinas humanas, que incluyen, sin limitaciones, CX3CL1, CXCL1, CXCL2, CXCL4, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL12, CXCL13, CXCL16, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL11, CCL13, CCL16,

CCL17, CCL19, CCL21, CCL22, CCL24, CCL25, CCL27, CCL28 y/o XCL1. En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta selectividad por CCL20 humano, en comparación con las quimioquinas mejoradas.

[0019] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón con una IC_{50} que es menor que 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,2 o 1,1 nM. En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón con una IC_{50} que es menor que 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,2 o 1,1 nM. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón con una IC_{90} que es menor que 45, 40, 35, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5,5, 5,4, 5,3, 5,2, 5,1, 4,9, 4,8, 4,7 o 4,6 nM. En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón con una IC_{90} que es menor que 6, 5,5, 5,4, 5,3, 5,2, 5,1, 4,9, 4,8, 4,7 o 4,6 nM. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón con una IC_{95} que es menor que 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8 o 7 nM. En determinadas formas de realización, el

anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón con una IC_{95} que es menor que 10, 9,9, 9,8, 9,7, 9,6, 9,5, 9,4, 9,3, 9,2, 9,1 o 9 nM.

[0020] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón *in vitro*.

[0021] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón *in vivo*.

[0022] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce el progreso de los síntomas de la artritis inducida con colágeno (tales como las lesiones en las articulaciones distales de las extremidades, tales como el codo o la rodilla, así como el grado de eritema y de hinchazón) en un sujeto, por ejemplo, en un modelo de artritis inducida con colágeno (CIA) y/o un modelo de artritis inducida con una glucosa-6-fosfato isomerasa (G6PI) en ratones. En algunas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de unión al antígeno de este, reduce las lesiones en los huesos de un sujeto, lo que incluye la osteoporosis, la erosión de los huesos y/o la erosión en los huesos y la formación de huesos nuevos, por ejemplo, en un modelo de CIA. En algunas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de unión al antígeno de este, reduce los niveles de la proteína oligomérica de la matriz del cartílago (COMP) en el suero de un sujeto, por ejemplo, en un modelo de CIA. En algunas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de unión al antígeno de este,

reduce los niveles del ARNm del receptor del activador del factor nuclear inductor de los oesteoclastos κB (RANKL), del receptor del activador del factor nuclear κB (RANK), de la fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP) y/o de la catepsina K en un sujeto, por ejemplo, en las patas de los ratones en un modelo de CIA. En algunas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de unión al antígeno de este, reduce los síntomas de la dermatitis atópica (por ejemplo, la sequedad, la formación de escamas, el eritema, la exudación o la formación de costras y la excoriación) en un sujeto, por ejemplo, los síntomas de la dermatitis atópica inducida con oxazolona en ratones de la cepa NC/Nga. En algunas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de unión al antígeno de este, reduce los síntomas de la dermatitis de contacto alérgica en un sujeto, por ejemplo, los síntomas de la dermatitis de contacto alérgica inducida con dinitrofluorobenceno (DNFB) en un modelo en ratones.

[0023] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena pesada cuya CDR3 (H-CDR3) comprende la secuencia de SEQ ID N.º 67 o 68.

[0024] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena liviana cuya CDR3 (L-CDR3) comprende la secuencia de SEQ ID N.º 75.

[0025] En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una H-CDR3 cuya secuencia comprende SEQ ID N.º 67 y una L-CDR3 cuya secuencia comprende SEQ ID N.º 75, o bien comprende una H-CDR3 cuya secuencia comprende SEQ ID N.º 68 y

una L-CDR3 cuya secuencia comprende SEQ ID N.º 75.

[0026] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena pesada cuyas CDR1 (H-CDR1), CDR2 (H-CDR2) y CDR3 (H-CDR3) comprenden las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 60, 63 y 67;
- SEQ ID N.º 60, 64 y 67;
- SEQ ID N.º 61, 65 y 68;
- SEQ ID N.º 77, 79 y 67; o
- SEQ ID N.º 78, 80 y 68.

[0027] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena liviana cuyas CDR1 (L-CDR1), CDR2 (L-CDR2) y CDR3 (L-CDR3) comprenden las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 70, 73 y 75; o
- SEQ ID N.º 71, 73 y 75.

[0028] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende:

una H-CDR1 que comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 60-62, 77 y 78;

una H-CDR2 que comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 63-66 y 79-81;

una H-CDR3 que comprende la secuencia de SEQ ID N.º 67 o 68;

una L-CDR1 que comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 70-72;

una L-CDR2 que comprende la secuencia de SEQ ID N.º 73 o 74; o

una L-CDR3 que comprende SEQ ID N.º 75;

o cualquier combinación de estas.

[0029] En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una H-CDR1, una H-CDR2, una H-CDR3, una L-CDR1, una L-CDR2 y una L-CDR3 que comprenden las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 60, 63, 67, 70, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 60, 64, 67, 70, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 61, 65, 68, 70, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 77, 79, 67, 70, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 78, 80, 68, 70, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 60, 63, 67, 71, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 60, 64, 67, 71, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 61, 65, 68, 71, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 77, 79, 67, 71, 73 y 75; o
- SEQ ID N.º 78, 80, 68, 71, 73 y 75.

[0030] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena pesada que comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 9-14. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la

porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena pesada que comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 39, 41 y 43.

[0031] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena liviana que comprende la secuencia de SEQ ID N.º 15 o 16. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena liviana que comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 40, 42 y 44.

[0032] En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena liviana que comprenden las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 9 y SEQ ID N.º 15;
- SEQ ID N.º 10 y SEQ ID N.º 15;
- SEQ ID N.º 11 y SEQ ID N.º 15;
- SEQ ID N.º 12 y SEQ ID N.º 15;
- SEQ ID N.º 13 y SEQ ID N.º 15;
- SEQ ID N.º 14 y SEQ ID N.º 15;
- SEQ ID N.º 9 y SEQ ID N.º 16;
- SEQ ID N.º 10 y SEQ ID N.º 16;
- SEQ ID N.º 11 y SEQ ID N.º 16;
- SEQ ID N.º 12 y SEQ ID N.º 16;

- SEQ ID N.º 13 y SEQ ID N.º 16; o
- SEQ ID N.º 14 y SEQ ID N.º 16.

[0033] En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena liviana que comprenden las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 39 y SEQ ID N.º 40;
- SEQ ID N.º 39 y SEQ ID N.º 42;
- SEQ ID N.º 39 y SEQ ID N.º 44;
- SEQ ID N.º 41 y SEQ ID N.º 40;
- SEQ ID N.º 41 y SEQ ID N.º 42;
- SEQ ID N.º 41 y SEQ ID N.º 44;
- SEQ ID N.º 43 y SEQ ID N.º 40;
- SEQ ID N.º 43 y SEQ ID N.º 42; o
- SEQ ID N.º 43 y SEQ ID N.º 44.

[0034] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena pesada que tiene una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 1-6 y 108, pero sin la secuencia señal (si está presente), y opcionalmente sin la lisina en el extremo C. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena liviana que tiene la secuencia seleccionada entre el grupo que consiste de SEQ ID N.º 7, 8, 110 y112, pero sin la secuencia señal (si está presente). En determinadas formas de

realización, el anticuerpo anti-CCL20 comprende una cadena pesada y una cadena liviana que tienen las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 1 y SEQ ID N.º 7;
- SEQ ID N.º 2 y SEQ ID N.º 7;
- SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 7;
- SEQ ID N.º 4 y SEQ ID N.º 7;
- SEQ ID N.º 5 y SEQ ID N.º 7;
- SEQ ID N.º 6 y SEQ ID N.º 7;
- SEQ ID N.º 1 y SEQ ID N.º 8;
- SEQ ID N.º 2 y SEQ ID N.º 8;
- SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 8;
- SEQ ID N.º 4 y SEQ ID N.º 8;
- SEQ ID N.º 5 y SEQ ID N.º 8;
- SEQ ID N.º 6 y SEQ ID N.º 8;
- SEQ ID N.º 108 y SEQ ID N.º 110; o
- SEQ ID N.º 108 y SEQ ID N.º 112;

pero sin la secuencia señal; o bien comprende SEQ ID N.º 1-6 y 108, opcionalmente sin la lisina en el extremo C.

[0035] En la presente invención también se provee un anticuerpo anti-CCL20, o una porción de unión al antígeno de este, que comprende un dominio variable de la cadena pesada que está codificado por una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 25-30. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un

dominio variable de la cadena pesada que está codificado por una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 51, 53 y 55.

[0036] Además, en la presente invención se provee un anticuerpo anti-CCL20, o una porción de unión al antígeno de este, que comprende un dominio variable de la cadena liviana que está codificado por la secuencia de SEQ ID N.º 31 o 32. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena liviana que está codificado por una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 52, 54 y 56.

[0037] En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena liviana que están codificados por las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 25 y SEQ ID N.º 31;
- SEQ ID N.º 26 y SEQ ID N.º 31;
- SEQ ID N.º 27 y SEQ ID N.º 31;
- SEQ ID N.º 28 y SEQ ID N.º 31;
- SEQ ID N.º 29 y SEQ ID N.º 31;
- SEQ ID N.º 30 y SEQ ID N.º 31;
- SEQ ID N.º 25 y SEQ ID N.º 32;
- SEQ ID N.º 26 y SEQ ID N.º 32;
- SEQ ID N.º 27 y SEQ ID N.º 32;
- SEQ ID N.º 28 y SEQ ID N.º 32;

- SEQ ID N.º 29 y SEQ ID N.º 32; o
- SEQ ID N.º 30 y SEQ ID N.º 32.

[0038] En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena liviana que están codificados por las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 51 y SEQ ID N.º 52;
- SEQ ID N.º 51 y SEQ ID N.º 54;
- SEQ ID N.º 51 y SEQ ID N.º 56;
- SEQ ID N.º 53 y SEQ ID N.º 52;
- SEQ ID N.º 53 y SEQ ID N.º 54;
- SEQ ID N.º 53 y SEQ ID N.º 56;
- SEQ ID N.º 55 y SEQ ID N.º 52;
- SEQ ID N.º 55 y SEQ ID N.º 54; o
- SEQ ID N.º 55 y SEQ ID N.º 56.

[0039] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena pesada que está codificada por una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 17-22, donde dicha secuencia carece de la porción que codifica la secuencia señal (si está presente), y opcionalmente carece de la secuencia que codifica la lisina en el extremo C. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena liviana que está codificada por una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste de SEQ ID

N.º 23, 24, 111y 113, donde dicha secuencia carece de la porción que codifica la secuencia señal (si está presente). En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20 comprende una cadena pesada y una cadena liviana que están codificadas por las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 17 y SEQ ID N.º 23;
- SEQ ID N.º 18 y SEQ ID N.º 23;
- SEQ ID N.º 19 y SEQ ID N.º 23;
- SEQ ID N.º 20 y SEQ ID N.º 23;
- SEQ ID N.º 21 y SEQ ID N.º 23;
- SEQ ID N.º 22 y SEQ ID N.º 23;
- SEQ ID N.º 17 y SEQ ID N.º 24;
- SEQ ID N.º 18 y SEQ ID N.º 24;
- SEQ ID N.º 19 y SEQ ID N.º 24;
- SEQ ID N.º 20 y SEQ ID N.º 24;
- SEQ ID N.º 21 y SEQ ID N.º 24;
- SEQ ID N.º 22 y SEQ ID N.º 24;
- SEQ ID N.º 109 y SEQ ID N.º 111; o
- SEQ ID N.º 109 y SEQ ID N.º 113;

donde ambas secuencias carecen de la porción que codifica la secuencia señal (si está presente), o bien comprende SEQ ID N.º 17-22 y 109, que opcionalmente carece de la secuencia que codifica la lisina en el extremo C.

[0040] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, es un anticuerpo humanizado o quimérico. En algunas formas de realización, las regiones del marco de trabajo de la cadena pesada del

anticuerpo anti-CCL20 humanizado, o de una porción de este, comprenden un gen IGHV1-46*03 de la línea germinal humana (véase, por ejemplo, Altschul *et al.*, "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997)). En determinadas formas de realización, las regiones del marco de trabajo de la cadena pesada presentan una homología de al menos 50 % con las regiones del marco de trabajo del gen IGHV1-46*03 de la línea germinal humana. Por ejemplo, las regiones del marco de trabajo de la cadena pesada pueden ser al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, al menos 99 %, o incluso 100 % idénticas a las regiones del marco de trabajo del gen IGHV1-46*03 de la línea germinal humana. En algunas formas de realización, las regiones del marco de trabajo de la cadena liviana del anticuerpo anti-CCL20 humanizado, o de una porción de este, comprenden un gen IGKV1D-39*01 de la línea germinal humana (véase Altschul *et al.*, *supra*). En determinadas formas de realización, las regiones del marco de trabajo de la cadena liviana presentan una homología de al menos 50 % con las regiones del marco de trabajo del gen IGKV1D-39*01 de la línea germinal humana. Por ejemplo, las regiones del marco de trabajo de la cadena liviana pueden ser al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, al menos 99 %, o incluso 100 % idénticas a las regiones del marco de trabajo del gen IGKV1D-39*01 de la línea germinal humana.

[0041] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este (en la medida en que dicha porción comprenda al menos una parte de una región constante de la cadena pesada), es una molécula de IgG, de IgM, de IgE, de IgA o de IgD. En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, es del subtipo de

la IgG1, de la IgG2, de la IgG3 o de la IgG4.

[0042] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20 es un anticuerpo monoclonal.

[0043] En la presente invención también se provee un anticuerpo anti-CCL20, o una porción de unión al antígeno de este, que se une a un epitope de CCL20 humano que está localizado en el rizo N y/o en la horquilla β2-β3 de las moléculas. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o una porción de este, se une al mismo epitope en CCL20 humano que un anticuerpo como el que se describe en la presente, o una porción de este. Además, en la presente invención se provee un anticuerpo anti-CCL20, o una porción de unión al antígeno de este, que compite o compite de manera transversal por la unión a CCL20 humano con un anticuerpo como el que se describe en la presente, o con una porción de este.

[0044] En algunas formas de realización, el epitope de CCL20 humano al que se une el anticuerpo o la porción de unión al antígeno de este de la invención comprende una o más secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en

- los residuos 7-9 de SEQ ID N.º 84;
- los residuos 10-19 de SEQ ID N.º 84;
- los residuos 20-21 de SEQ ID N.º 84; y
- los residuos 20-22 de SEQ ID N.º 84,

o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84.

[0045] En algunas formas de realización, el epitope de CCL20 humano también comprende una o más secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en

- los residuos 39-55 de SEQ ID N.º 84;
- los residuos 39-57 de SEQ ID N.º 84;
- los residuos 56-67 de SEQ ID N.º 84; y
- los residuos 61-70 de SEQ ID N.º 84,

o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84.

[0046] En determinadas formas de realización, el epitope de CCL20 humano comprende cualquier combinación de las secuencias de aminoácidos que consisten en los residuos 7-9, 10-19, 20-22, 39-55, 56-57 y 61-70 de SEQ ID N.º 84 o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84.

[0047] En determinadas formas de realización, el epitope de CCL20 humano comprende los residuos 7-9, 10-19 y 20-22 de SEQ ID N.º 84 o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84. En determinadas formas de realización, el epitope de CCL20 humano comprende los residuos 7-9, 10-19, 20-22, 39-55, 56-57 y 61-70 de SEQ ID N.º 84 o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84. En determinadas formas de realización, el epitope de CCL20 humano comprende los residuos 7-9, 10-19, 20-22, 39-57 y 61-70 de SEQ ID N.º 84 o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden

a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84.

[0048] En determinadas formas de realización, el epitope de CCL20 humano comprende los residuos 7-9, 10-19 y 20-21 de SEQ ID N.º 84 o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84. En determinadas formas de realización, el epitope de CCL20 humano comprende los residuos 7-9, 10-19, 20-21, 39-55, 56-67 y 61-70 de SEQ ID N.º 84 o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84. En determinadas formas de realización, el epitope de CCL20 humano comprende los residuos 7-9, 10-19, 20-21, 39-57 y 61-70 de SEQ ID N.º 84 o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84.

[0049] En algunas formas de realización, el epitope de CCL20 humano al que se une el anticuerpo o la porción de unión al antígeno de este comprende uno o más residuos de aminoácidos de SEQ ID N.º 84 (o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84) que se seleccionan entre los residuos 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 y 70, o cualquier combinación de estos.

[0050] En la presente invención también se provee una porción de unión al antígeno de cualquiera de los anticuerpos anti-CCL20 que se describen en la presente. La porción de unión al antígeno puede ser, por ejemplo, un anticuerpo de cadena simple, un fragmento Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$ o Fd, un fragmento Fv de cadena simple (scFv), un dímero biespecífico de fragmentos Fv de cadena simple,

un multímero polivalente de fragmentos Fv de cadena simple, un diacuerpo, un anticuerpo del que se ha eliminado un dominio o un anticuerpo con un solo dominio (dAb).

[0051] En la presente invención también se provee una variante de un anticuerpo o de una porción de unión al antígeno como los que se describen en la presente, donde la variante difiere del anticuerpo o de la porción de este en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 sustituciones de aminoácidos.

[0052] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo dirigido contra CCL20 humano, donde el dominio variable de la cadena pesada y el dominio variable de la cadena liviana del anticuerpo comprenden las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 9 y 15;
- SEQ ID N.º 9 y 16;
- SEQ ID N.º 10 y 16;
- SEQ ID N.º 11 y 15;
- SEQ ID N.º 11 y 16;
- SEQ ID N.º 12 y 16;
- SEQ ID N.º 13 y 16; o
- SEQ ID N.º 14 y 16.

[0053] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 1 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 7, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0054] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya

cadena pesada comprende SEQ ID N.º 1 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 7, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0055] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 1 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0056] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 1 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0057] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 2 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0058] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 2 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0059] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 3 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 7, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0060] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 3 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 7, donde estas secuencias de

aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0061] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 3 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0062] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 3 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0063] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 4 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0064] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 4 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0065] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 5 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0066] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 5 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0067] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya

cadena pesada comprende SEQ ID N.º 6 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0068] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 6 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0069] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 110.

[0070] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108, pero sin la lisina en el extremo C, y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 110.

[0071] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 112.

[0072] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108, pero sin la lisina en el extremo C, y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 112.

[0073] En otro aspecto, en la presente invención se proveen una o más moléculas de ácidos nucleicos, que pueden ser, por ejemplo, moléculas de ácidos nucleicos aisladas, que codifican una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, o una cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, donde la cadena pesada y la cadena liviana, o las porciones de unión al antígeno de estas,

pueden asociarse para formar un anticuerpo anti-CCL20, o una porción de unión al antígeno de este. En algunas formas de realización, las moléculas de ácidos nucleicos que codifican la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, comprenden una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 17-22, 25-30 y 109, donde opcionalmente, las secuencias de nucleótidos pueden carecer de la porción que codifica la secuencia señal. Las secuencias de nucleótidos de SEQ ID N.º 17-22 y 109 opcionalmente pueden carecer de la secuencia que codifica la lisina en el extremo C. En algunas formas de realización, las moléculas de ácidos nucleicos que codifican la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, comprenden una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 23, 24, 31, 32, 111 y 113, donde opcionalmente, las secuencias de nucleótidos pueden carecer de la porción que codifica la secuencia señal. En algunas formas de realización, las una o más moléculas de ácidos nucleicos codifican una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, y una cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana provienen de un anticuerpo como los que se describen en la presente, o de una porción de este. En determinadas formas de realización, una de las moléculas de ácidos nucleicos codifica una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, y una cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta.

[0074] En una forma de realización, las moléculas de ácidos nucleicos que codifican la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, las

moléculas de ácidos nucleicos que codifican la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, o las moléculas de ácidos nucleicos que codifican la cadena pesada y la cadena liviana, o las porciones de unión al antígeno de estas, se emplean para tratar un sujeto que lo necesita.

[0075] En otro aspecto, en la presente invención se provee un vector que comprende una o más secuencias de ácidos nucleicos que codifican una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, una cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, o una cadena pesada y una cadena liviana, o porciones de unión al antígeno de estas, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana provienen de un anticuerpo como los que se describen en la presente, o de una porción de este.

[0076] En otro aspecto, en la presente invención se provee una célula donde se expresa una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, una cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, o una cadena pesada y una cadena liviana, o porciones de unión al antígeno de estas, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana provienen de un anticuerpo como los que se describen en la presente, o de una porción de este.

[0077] En otro aspecto, en la presente invención se provee un método para preparar un anticuerpo como los que se describieron con anterioridad, o una porción de este, que comprende mantener una célula como las que se describen en la presente bajo condiciones apropiadas para expresar el anticuerpo o una porción de este. En algunas formas de realización, el método comprende un paso en el que se aísla el anticuerpo o una porción de este.

[0078] En la presente invención también se provee un método para producir un hibridoma que secreta un anticuerpo anti-CCL20. En determinadas formas de realización, el hibridoma produce un anticuerpo que se une a CCL20 humano salvaje. En la invención también se provee un hibridoma que puede obtenerse con los métodos de la invención. Opcionalmente, el anticuerpo monoclonal que es secretado por el hibridoma se recolecta y puede someterse a una purificación adicional (por ejemplo, puede purificárselo sustancialmente o aislárselo). En otras formas de realización, el método también comprende determinar la secuencia de nucleótidos del anticuerpo monoclonal que es secretado por el hibridoma.

[0079] En otro aspecto, en la presente invención se provee una composición que comprende un anticuerpo como los que se describen en la presente, o una porción de este, y un vehículo o un transporte farmacéuticamente aceptable.

[0080] En un aspecto, el anticuerpo que se describe en la presente, o una porción de este, se usa como medicamento. En determinadas formas de realización, el anticuerpo que se describe en la presente, o una porción de este, se usa para tratar un sujeto que lo necesita. En formas de realización particulares, el anticuerpo, o una porción de este, se usa para tratar una afección asociada a CCR6, una afección asociada a CCL20 o ambas. Estas afecciones incluyen, sin limitaciones, las afecciones inflamatorias o autoinmunes, particularmente la artritis, especialmente la artritis reumática, la dermatitis atópica o alérgica y la psoriasis. En otra forma de realización particular, el anticuerpo, o una porción de este, se usa para tratar un cáncer. El anticuerpo, o una porción de este, puede usarse para tratar, por ejemplo, la enfermedad de Graves, el vitíligo, el hipertiroidismo, la

artritis reumática, la psoriasis, la dermatitis atópica, la dermatitis de contacto, la enfermedad de Crohn, la enfermedad intestinal inflamatoria, las afecciones malignas de las células B, el adenocarcinoma de mama, la hepatitis crónica, el glioblastoma, el carcinoma hepatocelular, las infecciones de papilomavirus humanos en el cuello uterino, las micosis fungoides, el adenocarcinoma pancreático, la enfermedad periodontal, el carcinoma papilar en la tiroides, la pustulosis en las palmas y en las plantas de los pies, las afecciones relacionadas con el exantema maculopapular, la epidermólisis bulbosa, la alopecia areata, la esclerosis múltiple, la polimiositis, la dermatomiositis, la enfermedad de Behcet, la pustulosis exantematosa generalizada aguda, los vasculítidos, la artritis idiopática juvenil, la sarcoidosis, el asma bronquial, la rinitis alérgica, el rechazo de aloinjertos renales, la enfermedad del injerto contra el huésped, el rechazo de aloinjertos hepáticos, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la fibrosis quística, la glomerulonefritis, las infecciones del virus sincicial respiratorio, el mieloma múltiple y/o la histiocitosis en las células de Langerhans.

[0081] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de este, se usa para reducir la quimiotaxis inducida por CCL20 humano en las células CCR6+ de un sujeto que lo necesita.

[0082] En algunas formas de realización, en la presente invención se proveen los siguientes artículos.

1. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, donde dicho anticuerpo comprende una cadena pesada cuya región de determinación de la complementariedad 3 (CDR3)

comprende SEQ ID N.º 67 o 68.

2. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 1, donde la región de determinación de la complementariedad 1 (CDR1), la región de determinación de la complementariedad 2 (CDR2) y la región de determinación de la complementariedad 3 (CDR3) de dicha cadena pesada comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

   a) SEQ ID N.º 60, 64 y 67;

   b) SEQ ID N.º 60, 63 y 67;

   c) SEQ ID N.º 61, 65 y 68;

   d) SEQ ID N.º 77, 79 y 67; y

   e) SEQ ID N.º 78, 80 y 68.

3. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, donde dicho anticuerpo comprende una cadena liviana cuya región de determinación de la complementariedad 3 (CDR3) comprende SEQ ID N.º 75.

4. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 3, donde la región de determinación de la complementariedad 1 (CDR1), la región de determinación de la complementariedad 2 (CDR2) y la región de determinación de la complementariedad 3 (CDR3) de dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

   a) SEQ ID N.º 70, 73 y 75; y

b) SEQ ID N.º 71, 73 y 75.

5. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 1 o 3, donde la cadena pesada de dicho anticuerpo comprende una CDR3 que comprende SEQ ID N.º 67 o 68 y la cadena liviana de dicho anticuerpo comprende una CDR3 que comprende SEQ ID N.º 75.

6. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 2 o 4, donde la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de dicha cadena pesada y la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

a) SEQ ID N.º 60, 64, 67, 70, 73 y 75;

b) SEQ ID N.º 60, 64, 67, 71, 73 y 75;

c) SEQ ID N.º 60, 63, 67, 70, 73 y 75;

d) SEQ ID N.º 60, 63, 67, 71, 73 y 75;

e) SEQ ID N.º 61, 65, 68, 70, 73 y 75;

f) SEQ ID N.º 61, 65, 68, 71, 73 y 75;

g) SEQ ID N.º 77, 79, 67, 70, 73 y 75;

h) SEQ ID N.º 77, 79, 67, 71, 73 y 75;

i) SEQ ID N.º 78, 80, 68, 70, 73 y 75; y

j) SEQ ID N.º 78, 80, 68, 71, 73 y 75.

7. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano o una porción de unión al antígeno de este, donde dicho anticuerpo comprende una cadena pesada cuyo dominio variable comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona entre SEQ ID N.º 9-14.

8. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano o una porción de unión al antígeno de este, donde dicho anticuerpo comprende una cadena liviana cuyo dominio variable comprende SEQ ID N.º 15 o 16.

9. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 7 u 8, donde el dominio variable de la cadena pesada y el dominio variable de la cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

   a) SEQ ID N.º 9 y 15;

   b) SEQ ID N.º 9 y 16;

   c) SEQ ID N.º 10 y 16;

   d) SEQ ID N.º 11 y 15;

   e) SEQ ID N.º 11 y 16;

   f) SEQ ID N.º 12 y 16;

   g) SEQ ID N.º 13 y 16; y

   h) SEQ ID N.º 14 y 16.

10. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano cuya cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 1-6, pero sin la secuencia señal, y SEQ ID N.º 108.

11. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano cuya cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 1-6, pero sin la secuencia señal, y SEQ ID N.º 108, donde dicha secuencia de aminoácidos carece de la lisina en el extremo C.

12. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano cuya cadena liviana

comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 7 y 8, pero sin la secuencia señal, y SEQ ID N.º 110 y 112.

13. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización10-12, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

a) SEQ ID N.º 1 y 7;

b) SEQ ID N.º 1 y 8;

c) SEQ ID N.º 2 y 8;

d) SEQ ID N.º 3 y 7;

e) SEQ ID N.º 3 y 8;

f) SEQ ID N.º 4 y 8;

g) SEQ ID N.º 5 y 8;

h) SEQ ID N.º 6 y 8;

i) SEQ ID N.º 108 y 110; y

j) SEQ ID N.º 108 y 112;

donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal, y donde SEQ ID N.º 1-6 opcionalmente carecen de la lisina en el extremo C.

14. Un anticuerpo monoclonal cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 110.

15. Un anticuerpo monoclonal cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108, pero sin la lisina en el extremo C, y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 110.

16. Un anticuerpo monoclonal cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 112.

17. Un anticuerpo monoclonal cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 1, pero sin la secuencia señal y sin la lisina en el extremo C, y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, pero sin la secuencia señal.

18. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, que se une al mismo epitope de CCL20 humano que el anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-17.

19. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, que compite por la unión a CCL20 humano con el anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-17.

20. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, que compite de manera transversal por la unión a CCL20 humano con el anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-17.

21. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-12, donde el anticuerpo es un anticuerpo humanizado.

22. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-6, donde las regiones del marco de trabajo de dicha cadena pesada comprenden un gen IGHV1-46*03 de la línea

germinal humana y donde las regiones del marco de trabajo de dicha cadena liviana comprenden un gen IGKV1D-39*01 de la línea germinal humana.

23. El anticuerpo monoclonal de cualquiera de las formas de realización 1-9 y 18-22, donde dicho anticuerpo comprende un dominio constante de la IgG1, la IgG2, la IgG3 o la IgG4 humana.

24. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, cuya cadena pesada comprende un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 39, 41 y 43.

25. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, cuya cadena liviana comprende un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 40, 42 y 44.

26. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 24 o 25, donde dicha cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 39, 41 y 43 y donde dicha cadena liviana comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 40, 42 y 44.

27. El anticuerpo de la forma de realización 26, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

a) SEQ ID N.º 39 y 40;

b) SEQ ID N.º 41 y 42; y

c) SEQ ID N.º 43 y 44.

28. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, donde dicho anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende SEQ ID N.º 39 y una cadena liviana que comprende SEQ ID N.º 40.

29. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 24-28, donde dicho anticuerpo es un anticuerpo quimérico.

30. La porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-9, 18-22 y 24-28, donde dicha porción es un anticuerpo de cadena simple, un fragmento Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$ o Fd, un fragmento Fv de cadena simple (scFv), un dímero biespecífico de fragmentos Fv de cadena simple, un multímero polivalente de fragmentos Fv de cadena simple, un diacuerpo, un anticuerpo del que se ha eliminado un dominio o un anticuerpo con un solo dominio (dAb).

31. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1-30, donde dicho anticuerpo, o una porción de unión al antígeno de este, presenta una o más de las siguientes propiedades:

a) no se une a CCL16 humano;

b) se une a CCL20 de mono cangrejero o de macaco Rhesus, pero no

a CCL20 de ratón o de rata;

c) presenta una afinidad de unión por CCL20 humano de 70 pM o menos cuando se la determina usando un ensayo de resonancia de plasmón superficial monovalente;

d) presenta una afinidad de unión por CCL20 humano de 12 pM o menos cuando se la determina usando un ensayo de resonancia de plasmón superficial bivalente;

e) presenta una afinidad de unión por CCL20 humano que es mayor que la afinidad que presenta por CCR6 humano;

f) presenta selectividad por CCL20 humano, en comparación con las quimioquinas humanas CX3CL1, CXCL1, CXCL2, CXCL4, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL12, CXCL13, CXCL16, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL11, CCL13, CCL16, CCL17, CCL19, CCL21, CCL22, CCL24, CCL25, CCL27, CCL28 o XCL1;

g) reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano en las células CCR6+ con una IC_{50} de 1,7 nM o menos;

h) reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano en las células CCR6+ *in vivo*;

i) reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano en las células CCR6+*in vitro*;

j) reduce el progreso de los síntomas de la artritis en un sujeto;

k) reduce la osteoporosis, la erosión de los huesos o la formación de huesos nuevos en un sujeto;

l) reduce los niveles de la proteína oligomérica de la matriz del cartílago (COMP) en el suero de un sujeto;

m) reduce los niveles del ARNm de RANKL, de RANK, de TRAP de la catepsina K en un sujeto;

n) reduce los síntomas de la dermatitis atópica en un sujeto; y

o) reduce los síntomas de la dermatitis de contacto alérgica en un sujeto.

32. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, que se une a un epitope de CCL20 humano que comprende una o más secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en

a) los residuos 7-9 de SEQ ID N.º 84;

b) los residuos 10-19 de SEQ ID N.º 84; y

c) los residuos 20-22 de SEQ ID N.º 84.

33. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 32, donde el epitope comprende los residuos 7-9, 10-19 y 20-22 de SEQ ID N.º 84.

34. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 32, donde el epitope también comprende una o más secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en

a) los residuos 39-55 de SEQ ID N.º 84;

b) los residuos 56-67 de SEQ ID N.º 84; y

c) los residuos 61-70 de SEQ ID N.º 84.

35. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 34, donde el epitope comprende los residuos 7-9, 10-19, 20-22, 39-55, 56-67 y 61-70 de SEQ ID N.º 84.

36. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1-35.

37. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1-35.

38. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, y la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1-35.

39. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, donde dicha molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 17-22, 25-30 y 109, donde opcionalmente, la secuencia de nucleótidos puede carecer de la porción que codifica la secuencia señal.

40. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, donde dicha molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ

ID N.º 23, 24, 31, 32, 111 y 113, donde opcionalmente, la secuencia de nucleótidos puede carecer de la porción que codifica la secuencia señal.

41. La molécula de ácido nucleico aislada de la forma de realización 39 o 40, donde dicha molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 17-22, 25-30 y 109 o comprende una secuencia de nucleótidos como las mencionadas, pero sin la porción que codifica la secuencia señal, y donde dicha molécula de ácido nucleico también comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 23, 24, 31, 32 111 y 113 o comprende una secuencia de nucleótidos como las mencionadas, pero sin la porción que codifica la secuencia señal.

42. Uso (1) de una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada o una porción de unión al antígeno de esta, (2) de una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena liviana o una porción de unión al antígeno de esta o (3) de una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada y una cadena liviana, o porciones de unión al antígeno de estas, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana provienen de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1-35, como medicamento.

43. Un vector recombinante que comprende (1) una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, (2) una secuencia de ácido nucleico que codifica, una cadena liviana o una porción de unión al antígeno de esta, o (3) una

secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada y una cadena liviana, o porciones de unión al antígeno de estas, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana provienen de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1-35.

44. Una célula huésped que comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1-35, donde dicha primera secuencia de ácido nucleico está unida operativamente a un elemento para controlar la expresión, y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de dicho anticuerpo o de dicha porción, donde dicha segunda secuencia de ácido nucleico está unida operativamente a un elemento para controlar la expresión.

45. Un método para elaborar un anticuerpo anti-CCL20 humano o una porción de unión al antígeno de este, que comprende mantener una célula huésped de la forma de realización 44 bajo condiciones apropiadas para expresar el anticuerpo o una porción de este.

46. El método de la forma de realización 45, que también comprende aislar el anticuerpo o una porción de este.

47. Una composición que comprende un anticuerpo monoclonal o una porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 y un vehículo o un transporte farmacéuticamente aceptable.

48. Un método para tratar un sujeto que lo necesita, que comprende administrarle al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47.

49. Un método para tratar una afección en un sujeto que lo necesita, que comprende administrarle al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47.

50. El método de la forma de realización 49, donde dicha afección es una afección asociada a CCR6.

51. El método de la forma de realización 49, donde dicha afección es una afección autoinmune o inflamatoria.

52. El método de la forma de realización 49, donde dicha afección es la artritis reumática, la psoriasis, la dermatitis atópica, la dermatitis de contacto, la enfermedad de Crohn, la enfermedad intestinal inflamatoria, la enfermedad de Graves, el vitíligo, el hipertiroidismo, la hepatitis crónica, una infección de papilomavirus humanos en el cuello uterino, una micosis fungoide, la osteoporosis o la enfermedad periodontal.

53. Un método para tratar un cáncer, que comprende administrarle a un sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47.

54. El método de la forma de realización 53, donde dicho cáncer es una

afección maligna de las células B, un adenocarcinoma de mama, un glioblastoma, un carcinoma hepatocelular, un adenocarcinoma pancreático o un carcinoma papilar en la tiroides.

55. Un método para reducir la quimiotaxis mediada por CCL20 de las células CCR6+ en un sujeto que lo necesita, que comprende administrarle al sujeto un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47.

56. Un método para reducir la quimiotaxis mediada por CCL20 en células CCR6+ *in vitro* donde se usa un anticuerpo o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47.

57. Un método para tratar una afección en un sujeto, que comprende administrarle al sujeto un anticuerpo o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47, donde dicha afección se selecciona del grupo que consiste en

a) las articulaciones distales de las extremidades, tales como el codo o la rodilla;

b) el eritema;

c) la hinchazón;

d) los niveles incrementados de la proteína oligomérica de la matriz del cartílago (COMP) en el suero;

e) los niveles incrementados del ARNm del receptor del activador del

factor nuclear inductor de los oesteoclastos κB (RANKL), del receptor del activador del factor nuclear κB (RANK), de la fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP) o de la catepsina K;

f) la dermatitis atópica; y

g) la dermatitis de contacto alérgica.

58. Uso de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47 en la manufactura de un medicamento.

59. Uso de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47 como medicamento.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LOS DIBUJOS

[0083] La figura 1 es un gráfico donde se ilustra que los ratones con deficiencias en CCR6 son menos sensibles a la artritis inducida con colágeno que los ratones salvajes. Los ratones salvajes fueron ratones $CCR6^{+/+}$. Los ratones heterocigotas fueron ratones $CCR6^{+/-}$. Los ratones sometidos a knockout fueron ratones $CCR6^{-/-}$. Véase el ejemplo 1.

[0084] La figura 2 es un gráfico donde se ilustra que los ratones con deficiencias en CCR6 presentan una infiltración alterada de células T (lo que se ve reflejado en los niveles de CD3) en las lesiones propias de la artritis inducida con colágeno, en comparación con los ratones salvajes. Los datos que se proveen son la media ± el error estándar de la media de un experimento (n = 7 ratones por grupo). *p < 0,05,

**p < 0,01. Véase el ejemplo 1.

[0085] La figura 3 es un gráfico donde se ilustra que los ratones con deficiencias en CCR6 presentan una infiltración alterada de macrófagos (lo que se ve reflejado en los niveles de F4/80) en las lesiones propias de la artritis inducida con colágeno, en comparación con los ratones salvajes. Los datos que se proveen son la media ± el error estándar de la media de un experimento (n = 7 ratones por grupo). **p < 0,01. Véase el ejemplo 1.

[0086] La figura 4 es un gráfico donde se ilustra que, en comparación con los ratones salvajes, los ratones con deficiencias en CCR6 son resistentes a la hinchazón de las orejas que se produce en un modelo de dermatitis de contacto alérgica inducida con dinitrofluorobenceno (DNFB). WT representa los ratones salvajes. KO representa los ratones que fueron sometidos a un knockout, que presentaron deficiencias en CCR6. Véase el ejemplo 1.

[0087] La figura 5 es un gráfico donde se ilustra que el anticuerpo monoclonal 2F5-5 inhibe la quimiotaxis inducida por CCL20. Véase el ejemplo 1.

[0088] En las figuras 6A-C se proveen alineamientos de las secuencias de los dominios variables de los anticuerpos de la invención (SEQ ID N.º 9-16) con las secuencias de los dominios variables de los siguientes anticuerpos anti-humanos de ratón: 36F7C10 (VH: SEQ ID N.º 39; VL: SEQ ID N.º 40) y 42G5B10 (VH: SEQ ID N.º 43), y con las siguientes secuencias de la línea germinal: IGHV1-46*03 (SEQ ID N.º 57), JH4 (SEQ ID N.º 58) e IGKV1D-39*01 (SEQ ID N.º 59). Se proveen las definiciones de Kabat y de Chotia de cada CDR. ABM67212 (SEQ ID N.º 82) y BAH04867.1 (SEQ ID N.º 83) son los anticuerpos humanos de los que se

obtuvieron las regiones del marco de trabajo que comprende el anticuerpo humanizado ilustrado. Véase el ejemplo 3.

[0089] Las figuras 7A-C son tablas donde se representa la inhibición de la quimiotaxis *in vitro* provocada por diversas combinaciones de cadenas de anticuerpos anti-CCL20 humano humanizados. Los datos representan tres pruebas, excepto donde se indique lo contrario. Véase el ejemplo 4.

[0090] En las figuras 8A-C se ilustran tres pruebas independientes que se llevaron a cabo para evaluar el efecto de inhibición del anticuerpo anti-CCL20 humano humanizado HC2/LK3. Se demostró que el anticuerpo HC2/LK3 inhibe la quimiotaxis inducida por CCL20. Se proveen los valores de la IC_{50}, de la IC_{90} y de la IC_{95} para cada experimento. Véase el ejemplo 4.

[0091] En las figuras 9A-C se proveen una serie de gráficos donde se ilustra que los anticuerpos humanizados (B) HC2/LK3 y (C) HC2/LC3 ejercen una inhibición de la migración celular dependiente de la dosis que es comparable a la que provoca (A) el anticuerpo de ratón 36F7C10, en un ensayo de migración transendotelial. Véase el ejemplo 4.

[0092] En las figuras 10A y B se ilustran sensogramas Biacore™ donde puede observarse que los anticuerpos humanizados (A) HC2/LC3 y (B) HC2/LK3 se unen a CCL20 humano de una manera que depende de la concentración. Véase el ejemplo 5.

[0093] En las figuras 11A y D se demuestra que los anticuerpos anti-CCL20 humano se unen específicamente a CCL20 humano. Se usó un ensayo de ELISA con CCL20 y otras quimioquinas unidos a placas (en una concentración de 1

µg/ml) para detectar la unión (A) de 36F7C10 y los anticuerpos quiméricos y (B) de los anticuerpos humanizados HC2LK3 y HC2LC3. En (C), se usó un ensayo de ELISA con CCL20 anclado y marcado con His para detectar la unión. En (D), se llevaron a cabo experimentos Biacore™ para confirmar que los anticuerpos anti-CCL20 humano se unen a CCL20 humano y presentan una unión insignificante con CXCL4. Véase el ejemplo 6.

[0094] En la figura 12 se ilustra un alineamiento entre las secuencias de aminoácidos de una porción de CCL20 con una superposición de 56 residuos (SEQ ID N.º 114) y de CCL16 (SEQ ID N.º 115). Véase el ejemplo 6.

[0095] En las figuras 13A y B se provee una serie de gráficos donde se ilustra que los anticuerpos (A) quiméricos y (B) humanizados anti-CCL20 humano reaccionan de manera específica con CCL20 y no reaccionan con CCL16. Véase el ejemplo 6.

[0096] En la figura 14 se ilustran alineamientos entre las secuencias de aminoácidos de los ortólogos de CCL20 humano (SEQ ID N.º 85), de macaco Rhesus (SEQ ID N.º 86), de mono cangrejero (SEQ ID N.º 87) y de ratón (SEQ ID N.º 88). Véase el ejemplo 7.

[0097] La figura 15 es una representación esquemática de la detección de los anticuerpos anti-CCL20 humano en los ensayos de ELISA. Véase el ejemplo 7.

[0098] En las figuras 16A-C se ilustra una serie de gráficos donde se ilustra que los anticuerpos anti-CCL20 humano (A) quiméricos y (B) humanizados se unen de manera efectiva a CCL20 humano, de macaco Rhesus y de mono cangrejero, pero no a CCL20 de ratón. Véase el ejemplo 7.

[0099] En las figuras 17A y B se provee una serie de gráficos donde se ilustra que

los anticuerpos anti-CCL20 humano humanizados y quiméricos se unen de manera efectiva a CCL20 humano, de macaco Rhesus y de mono cangrejero, pero no a CCL20 de ratón o de rata. Los anticuerpos (B) humanizados y (A) quiméricos retienen la especificidad de unión por (A) el anticuerpo de ratón 36F7C10 del que derivan. Véase el ejemplo 7.

[0100] En las figuras 18A y B se ilustran los resultados del mapeo de epitopes de CCL20 humano, que se llevó a cabo a través de un intercambio de hidrógeno/deuterio. En este experimento, se empleó una variante de CCL20 humano (SEQ ID N.º 84) de R&D Systems, en la cual el penúltimo de los residuos es D en lugar de N, tal como se ilustra en la secuencia salvaje. En (A), se representa el nivel de deuteración de cada uno de los residuos de CCL20 en cuatro puntos de tiempo (desde la parte superior, 150 segundos, 500 segundos, 1500 segundos y 5000 segundos). En (B), se representa la estructura de CCL20 humano, donde puede observarse un epitope al que se unen los anticuerpos de la invención. Véase el ejemplo 9.

[0101] En la figura 19 se provee un par de gráficos donde se ilustra que las células B300 que fueron transducidas con CCR6 de ratón migran hacia CCL20 de ratón y humano. Véase el ejemplo 10.

[0102] La figura 20 es un gráfico donde se ilustra que los anticuerpos de ratón quiméricos y humanizados anti-CCL20 humano inhiben la migración de las células T de ratón hacia CCL20 humano *in vivo* de una manera que depende de la dosis. Véase el ejemplo 10.

[0103] La figura 21 es un gráfico donde se ilustra que el anticuerpo monoclonal de

hámster anti-CCL20 de ratón 2F5-5 reduce los síntomas de la artritis inducida con colágeno en los ratones. Véase el ejemplo 11.

[0104] La figura 22 es una tabla en la que se detallan las calificaciones clínicas de los animales individuales, donde puede observarse que el anticuerpo monoclonal 2F5-5 reduce el progreso de los síntomas de la artritis inducida con colágeno. Véase el ejemplo 11.

[0105] La figura 23 es un gráfico donde se ilustra la calificación del estado de las patas de los ratones, que se determinó por medio de un análisis de rayos X con el anticuerpo monoclonal 2F5-5. Puede observarse que, al emplearse este anticuerpo, se reduce la patología en los huesos propia de la artritis inducida con colágeno. Como control, se empleó IgG. Véase el ejemplo 11.

[0106] En la figura 24 se proveen ejemplos de los análisis de rayos X que se emplearon para determinar la patología en los huesos de las patas de ratones que padecían artritis inducida con colágeno. O: osteoporosis. E: erosión de los huesos. N: formación de huesos nuevos. Véase el ejemplo 11.

[0107] En las figuras 25A-C se ilustran mediciones de un marcador de la destrucción de los cartílagos, la proteína oligomérica de la matriz del cartílago en el suero (COMP), en un modelo de artritis inducida con colágeno en ratones. En (A), se ilustran los datos con los que se realizó la calibración, donde se empleó COMP como referencia. En el eje. X, se representan las unidades por litro. En el eje Y, se representa la densidad óptica a 450 nm. En (B), se representan los datos de la placa molde y los datos en bruto de los ratones que fueron tratados con una IgG control de hámster o con el anticuerpo monoclonal 2F5-5. En (C), se proveen

datos de animales individuales, donde pueden observarse niveles reducidos de COMP en los animales que fueron tratados con el anticuerpo monoclonal 2F5-5, en comparación con los animales que fueron tratados con los anticuerpos control del tipo de la IgG. Véase el ejemplo 11.

[0108] La figura 26 es un gráfico donde se ilustra que el anticuerpo monoclonal 2F5-5 reduce los niveles de COMP en el suero de los ratones. Como IgG control, se empleó un anticuerpo con el mismo isotipo. Como anticuerpo contra CCL20, se empleó el anticuerpo monoclonal 2F5-5. Véase el ejemplo 11.

[0109] Las figuras 27A y B representan un gráfico donde se ilustra que el anticuerpo monoclonal 2F5-5 reduce la expresión del ARNm de los marcadores de los osteoclastos (A) RANKL, RANK y (B) TRAP y la catepsina K. Como IgG control, se empleó un anticuerpo con el mismo isotipo. Como anticuerpo contra CCL20, se empleó el anticuerpo monoclonal 2F5-5. En el eje Y se representan las unidades cuantitativas de la PCR. Véase el ejemplo 11.

[0110] La figura 28 es un gráfico donde se ilustra que el anticuerpo monoclonal 2F5-5 presenta un efecto profiláctico sobre la artritis inducida con glucosa-6-fosfato isomerasa en los ratones. Véase el ejemplo 12.

[0111] La figura 29 es un gráfico donde se ilustra que el anticuerpo monoclonal 2F5-5 suprime el progreso de la dermatitis atópica inducida con oxazolona en los ratones. Véase el ejemplo 13.

[0112] La figura 30 es un gráfico donde se ilustra que el anticuerpo monoclonal 2F5-5 inhibe la dermatitis de contacto alérgica inducida con dinitrofluorobenceno (lo cual puede determinarse sobre la base del grosor de las orejas) en los ratones.

Véase el ejemplo 14.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

[0113] Esta invención se relaciona con anticuerpos que se unen específicamente a CCL20 o a una porción de este (por ejemplo, una porción antigénica de este). la invención también se relaciona con porciones de unión al antígeno de dichos anticuerpos. En una forma de realización, los anticuerpos neutralizan una o más actividades de CCL20. Se dice que un anticuerpo se une específicamente a CCL20 si no se une sustancialmente a una molécula diferente de CCL20. La unión sustancial es, por ejemplo, la unión con una K_D menor o igual que 100 nM, preferiblemente menor o igual que 10 nM, 1 nM, 100 pM, 50 pM, 40 pM o 35 pM, puede determinarse con un análisis Biacore™ (en formato bivalente). En una forma de realización, los anticuerpos o las porciones de estos se unen específicamente a CCL20 humano o a una porción de este, así como a algunas variantes de secuencia de CCL20 humano, por ejemplo, variantes alélicas, y también pueden presentar una reacción transversal con CCL20 de otras especies. En una forma de realización, los anticuerpos o las porciones de estos presentan especificidad de unión por CCL20 humano, el cual puede ser natural, endógeno y/o salvaje. A menos que se indique lo contrario, "CCL20 humano" hace referencia a CCL20 humano salvaje. La secuencia de aminoácidos de CCL20 humano salvaje, incluyendo la secuencia señal, se ilustra en la figura 14 (SEQ ID N.º 85). La secuencia de aminoácidos de CCL20 humano salvaje sin la secuencia señal (los residuos 1-26 de SEQ ID N.º 85) puede hallarse en SEQ ID N.º 99 (tabla 18).

En la figura 18 se ilustra una variante de CCL20 humano, pero sin la secuencia señal (SEQ ID N.º 84), en la cual el penúltimo de los residuos es D en lugar de N, según se ilustra en la secuencia salvaje (SEQ ID N.º 85). En algunas formas de realización, los anticuerpos, o las porciones de estos, se unen a CCL20 humano salvaje o a un CCL20 humano en el que el penúltimo de los residuos es D en lugar de N, según se ilustra en la secuencia salvaje o en la secuencia salvaje sin la secuencia señal (SEQ ID N.º 84, 85 o 99). En una forma de realización particular, los anticuerpos o las porciones de estos se unen a específicamente CCL20 humano, de macaco Rhesus y de mono cangrejero, pero no se unen a CCL20 de ratón o de rata.

[0114] Los anticuerpos que se describen en la presente, y las porciones de unión al antígeno de estos, pueden purificarse y/o aislarse usando técnicas conocidas. Los anticuerpos o las porciones que se "purifican" o se "aíslan" han sido separados de otras moléculas (por ejemplo, péptidos) que normalmente están presentes en la fuente de la que se los obtiene (por ejemplo, el sobrenadante de las células en una mezcla, que puede ser una mezcla de anticuerpos de una biblioteca u otro tipo de mezcla), y abarcan los anticuerpos que se obtienen con los métodos que se describen en la presente o con otros métodos apropiados. Los anticuerpos aislados incluyen los anticuerpos sustancialmente puros (por ejemplo, esencialmente puros), así como los anticuerpos que se producen a través de una síntesis química, con técnicas recombinantes o con combinaciones de estas.

[0115] Más específicamente, la invención se relaciona con anticuerpos anti-CCL20 humano, con porciones de unión al antígeno de estos anticuerpos (que pueden

denominarse simplemente "porciones"), con las cadenas livianas de estos anticuerpos, con las cadenas pesadas de estos anticuerpos y con porciones de estas cadenas livianas o de estas cadenas pesadas. la invención también se relaciona con anticuerpos que carecen de las secuencias señal en la cadena pesada y/o en la cadena liviana y con anticuerpos glucosilados. la invención también se relaciona con anticuerpos precursores, con anticuerpos no glucosilados y con anticuerpos cuyas cadenas pesadas y/o livianas comprenden las secuencias señal. la invención también se relaciona con moléculas de ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las cadenas pesadas o las cadenas livianas de los anticuerpos que se describen en la presente, o porciones de estas, con vectores y células huésped que comprenden dichos ácidos nucleicos, con métodos para producir cualquiera de las cadenas pesadas o las cadenas livianas de los anticuerpos que se describen en la presente, o porciones de estas, y con métodos para usar los anticuerpos.

[0116] Los anticuerpos de esta invención, y las porciones de unión al antígeno de estos, pueden usarse para tratar un sujeto que lo necesita (por ejemplo, un paciente humano), con el propósito de reducir la unión de CCL20 a CCR6, la inflamación mediada por CCL20 y/o la quimiotaxis de las células CCR6+ mediada por CCL20, según sea necesario.

[0117] Los anticuerpos de la invención incluyen los anticuerpos tradicionales, que comprenden dos cadenas pesadas y dos cadenas livianas. En algunas formas de realización, una o más de las cadenas pesadas y/o livianas comprenden un dominio variable (que también se conoce en la presente como una "región

variable") y un dominio constante (que también se conoce en la presente como una "región constante"). Cuando están presentes, los dominios variables completos comprenden cuatro regiones del marco de trabajo (FR) y tres regiones de determinación de la complementariedad (CDR), que están dispuestas en el siguiente orden, desde el extremo amino: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Puede llevarse a cabo una inspección visual y un análisis de la secuencia para identificar los límites de las CDR. En el caso de esta invención, las secuencias de las CDR se definen usando el sistema de Kabat (Kabat, E.A. *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, quinta edición, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE. UU., Oficina de Impresión del Gobierno de los EE. UU. (1991)) y/o el sistema de Chotia (Chotia y Lesk, *Canonical Structures for the Hypervariable Regions of Immunoglobulins*, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)), tal como se ilustra, por ejemplo, en la figura 6.

[0118] Las formas de realización de la presente invención donde hay una región constante de una cadena pesada humana pueden abarcar una región constante humana de cualquier isotipo, por ejemplo, la IgG, la IgM, la IgA, la IgD y la IgE, donde las cadenas pesadas son cadenas de los tipos gamma (γ), mu (μ), alfa (α), delta (δ) o épsilon (ε), respectivamente, así como cualquier subclase, por ejemplo, la IgG1, la IgG2, la IgG3, la IgG4, la IgA1 y la IgA2, donde las cadenas pesadas son del tipo γ1, γ2, γ3, γ4, α1 o α2, respectivamente. Las formas de realización donde hay una cadena liviana humana pueden abarcar una cadena liviana kappa (κ) o a lambda (λ) humana.

[0119] Tal como se lo emplea en la presente, el término "anticuerpo" hace

referencia a un anticuerpo completo (que comprende dos cadenas pesadas completas y dos cadenas livianas completas). El término "fragmento de unión al antígeno" se usa indistintamente en la presente con el término "porción de unión al antígeno", a menos que se indique lo contrario. Las porciones de unión al antígeno de los anticuerpos pueden ser, por ejemplo, un anticuerpo de cadena simple, un fragmento Fv, un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento $F(ab')_2$, un fragmento Fd, un fragmento Fv de cadena simple (scFv), un dímero biespecífico de fragmentos Fv de cadena simple (PCT/US92/09665), un diacuerpo, un anticuerpo del que se ha eliminado un dominio o un anticuerpo con un solo dominio (dAb). Véase, por ejemplo, Jespers *et al.*, *Nature Biotechnology* 22(9):1161-1165 (2004)). Dentro del alcance de la invención también se incluyen las moléculas de unión al antígeno que comprenden una VH y/o una VL. En el caso en que haya una VH, las moléculas también podrán comprender una o más de las siguientes regiones: CH1, la bisagra, CH2 y CH3.

[0120] Las porciones de los anticuerpos pueden producirse realizando cortes con enzimas o empleando técnicas recombinantes. Por ejemplo, puede recurrirse a un corte con papaína o con pepsina para generar fragmentos Fab o $F(ab')_2$, respectivamente. Los anticuerpos también pueden producirse en una variedad de formas truncadas, usando genes de anticuerpos donde se han introducido uno o más codones de terminación hacia el extremo 5' del sitio de terminación natural. Por ejemplo, es posible diseñar una construcción recombinante que codifique la cadena pesada de un fragmento $F(ab')_2$, de manera tal que incluya secuencias de ADN que codifiquen el dominio CH_1 y la región de la bisagra de la cadena

pesada..

[0121] En otra forma de realización, podrá elaborarse un anticuerpo de fusión o una inmunoadhesina que comprenda la totalidad un anticuerpo anti-CCL20 de la invención, o una porción de este, unido a otro polipéptido. En una forma de realización, solamente se unen los dominios variables del anticuerpo anti-CCL20 al polipéptido. En otra forma de realización, el dominio V_H de un anticuerpo anti-CCL20 se une a un primer polipéptido, mientras que el dominio V_L del anticuerpo anti-CCL20 se une a un segundo polipéptido, el cual se asocia al primer polipéptido de un modo tal que los dominios V_H y V_L pueden interactuar para formar un sitio de unión al antígeno. En aun otra forma de realización, el dominio V_H queda separado del dominio V_L por un conector, de manera tal que los dominios V_H y V_L pueden interactuar (véase la sección de los anticuerpos de cadena simple más adelante). Después, el anticuerpo que comprende el dominio V_H, el conector y el dominio V_L se une al polipéptido de interés. Además, es posible crear anticuerpos de fusión donde haya dos (o más) anticuerpos de cadena simple unidos, con lo que se formarán anticuerpos divalentes o polivalentes en una sola cadena polipeptídica, o bien se formarán anticuerpos biespecíficos.

[0122] Para crear un anticuerpo de cadena simple de la invención, los fragmentos de ADN que codifican los dominios V_H y V_L se unen operativamente a otro fragmento que codifica un conector flexible, por ejemplo, a un fragmento que codifica la secuencia de aminoácidos $(Gly_4\text{-}Ser)_3$, de modo tal que los dominios V_H y V_L pueden expresarse como una proteína continua de una sola cadena, donde

están unidos por el conector flexible. Véanse, por ejemplo, Bird *et al.*, *Science* 242:423-426 (1988); Huston *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883 (1988); McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-554 (1990); etcétera. En algunas formas de realización, el anticuerpo de cadena simple es un anticuerpo monovalente (cuando solamente se usa un dominio V_H y un dominio V_L), bivalente (cuando se usan dos dominios V_H y dos dominios V_L) o polivalente (cuando se usan más de dos dominios V_H y más de dos dominios V_L). la invención también abarca los anticuerpos biespecíficos o polivalentes que se unen específicamente a CCL20 humano y a otras moléculas.

[0123] En otras formas de realización, pueden prepararse otros anticuerpos modificados usando moléculas de ácidos nucleicos que codifican anticuerpos anti-CCL20. Por ejemplo, pueden prepararse "cuerpos kappa" (Ill *et al.*, *Protein Eng.* 10:949-57 (1997)), "minicuerpos" (Martin *et al.*, *EMBO J.* 13:5303-9 (1994)), "diacuerpos" (Holliger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993)) o "janusinas" (Traunecker *et al.*, *EMBO J.* 10:3655-3659 (1991); y Traunecker *et al.*, *Int. J. Cancer* (supl.) 7:51-52 (1992)) usando técnicas convencionales de biología molecular, de acuerdo con las enseñanzas que se proveen en esta memoria descriptiva.

[0124] En otro aspecto, en la invención se provee una variante de un anticuerpo como los que se describen a modo de ejemplo en la presente, o una porción de unión al antígeno de dicha variante de un anticuerpo, donde la variante del anticuerpo se une a CCL20 humano de manera específica, pero tiene una secuencia que difiere de la de los anticuerpos que se describen a modo de ejemplo en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más sustituciones de aminoácidos (que pueden hallarse, por ejemplo, en una región CDR, en una región FR y/o en un

dominio constante). De acuerdo con la invención, la variante del anticuerpo puede ser al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica al anticuerpo de referencia en la cadena pesada, en el dominio variable de la cadena pesada, en la cadena liviana, en el dominio variable de la cadena liviana, en las seis CDR o en las ocho FR.

[0125] Tal como se la emplea en la presente, la similitud entre las secuencias de los polipéptidos, que también se conoce como identidad de secuencia, típicamente se mide usando un software con el cual pueden analizarse las secuencias, donde se hacen coincidir secuencias similares usando medidas de la similitud que se asignan a diversas sustituciones, supresiones y modificaciones de otro tipo, que incluyen las sustituciones de aminoácidos conservativas. Por ejemplo, el conjunto de software para analizar las secuencias de Genetics Computer Group (GCG) contiene programas como "Gap" y "Bestfit", que pueden emplearse con los parámetros por omisión para determinar la homología o la identidad entre las secuencias de dos polipéptidos relacionados estrechamente, por ejemplo, entre polipéptidos homólogos provenientes de organismos de distintas especies, o bien entre una proteína salvaje y una muteína. Véase, por ejemplo, GCG, versión 6.1. Las secuencias de los polipéptidos también pueden compararse con FASTA, un programa en GCG, versión 6.1, con los parámetros por omisión o recomendados. FASTA (por ejemplo, FASTA2 y FASTA3) provee los alineamientos y el porcentaje de identidad de secuencia entre las regiones que mejor se superponen entre las secuencias analizadas y comparativas (Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98 (1990); Pearson, Methods Mol. Biol. 132:185-219 (2000)). Otro algoritmo que se

usa cuando se compara una secuencia de la invención con una base de datos que contiene una gran cantidad de secuencias de diversos organismos es el programa informático BLAST, especialmente blastp o tblastn, con los parámetros por omisión. Véanse, por ejemplo, Altschul *et al.*, J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990); Altschul *et al.*, Ácidos nucleicos Res. 25:3389-402 (1997); que se incorporan en la presente a modo de referencia.

[0126] De acuerdo con la invención, una o más de las cisteínas en el anticuerpo pueden ser químicamente reactivas, por lo que pueden cambiarse por otros residuos, tales como, sin limitaciones, alanina o serina. En una forma de realización, se sustituye una cisteína no canónica. La sustitución puede realizarse en una CDR o una región del marco de trabajo de un dominio variable o un dominio constante de un anticuerpo. En algunas formas de realización, la cisteína es canónica. En algunas formas de realización, se eliminan los sitios de proteólisis potenciales en el anticuerpo. Estos sitios pueden hallarse en una CDR o una región del marco de trabajo de un dominio variable o un dominio constante de un anticuerpo. Mediante la sustitución de los residuos de cisteína y la remoción de los sitios de proteólisis, puede reducirse el riesgo de heterogeneidad en el anticuerpo producido, con lo que puede incrementarse su homogeneidad. En algunas formas de realización, se eliminan los pares de asparragina y glicina, que pueden formar sitios de desamidación, mediante la alteración de uno de estos residuos o de ambos. En algunas formas de realización, el anticuerpo se desinmuniza para reducir su inmunogenicidad. Los procedimientos para reducir la inmunogenicidad de un anticuerpo son bien conocidos en la técnica. Véanse, por ejemplo, las

Publicaciones PCT n.º WO98/52976 y WO00/34317.

[0127] En algunas formas de realización, el anticuerpo presenta una o más sustituciones de aminoácidos conservativas, en comparación con uno de los anticuerpos que se describen a modo de ejemplo en la invención. Una "sustitución conservativa de un aminoácido" es una donde se reemplaza un residuo de aminoácido por otro residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral (un grupo R) con propiedades químicas similares (por ejemplo, la carga o la hidrofobicidad). En general, una sustitución conservativa de un aminoácido no altera sustancialmente las propiedades funcionales de una proteína. En aquellos casos donde dos o más secuencias de aminoácidos difieren en sustituciones conservativas, el porcentaje de identidad de secuencia o el grado de similitud pueden ajustarse con un incremento debido a la naturaleza conservativa de la sustitución. Los medios para realizar este ajuste han de resultar bien conocidos para aquellos versados en la técnica. Véase, por ejemplo, Pearson, Methods Mol. Biol. 243:307-31 (1994).

[0128] Los ejemplos de grupos de aminoácidos que tienen cadenas laterales con propiedades químicas similares incluyen 1) los aminoácidos con cadenas laterales alifáticas: la glicina, la alanina, la valina, la leucina y la isoleucina; 2) los aminoácidos con cadenas laterales alifáticas con grupos hidroxilo: la serina y la treonina; 3) los aminoácidos con cadenas laterales que contienen amidas: la asparragina y la glutamina; 4) los aminoácidos con cadenas laterales aromáticas: la fenilalanina, la tirosina y el triptofano; 5) los aminoácidos con cadenas laterales básicas: la lisina, la arginina y la histidina; 6) los aminoácidos con cadenas

laterales ácidas: el ácido aspártico y el ácido glutámico; y 7) los aminoácidos con cadenas laterales que contienen azufre: la cisteína y la metionina. Los grupos preferidos para realizar sustituciones de aminoácidos conservativas incluyen la valina, la leucina y la isoleucina; la fenilalanina y la tirosina; la lisina y la arginina; la alanina y la valina; el glutamato y el aspartato; y la asparragina y la glutamina. Como alternativa, un reemplazo conservativo hace referencia a cualquier cambio que tiene un valor positivo en la matriz de probabilidad logarítmica PAM250, que se describe en Gonnet *et al.*, *Science* 256:1443-45 (1992). Un reemplazo "moderadamente conservativo" hace referencia a cualquier cambio que tiene un valor no negativo en la matriz de probabilidad logarítmica PAM250.

[0129] En determinadas formas de realización, las sustituciones de aminoácidos en un anticuerpo de la invención, o en una porción de unión al antígeno de este, tienen cualquiera de los siguientes resultados: (1) reducen la susceptibilidad a la proteólisis, (2) reducen la susceptibilidad a la oxidación, (3) alteran la afinidad de unión, en el contexto de la formación de complejos proteicos, por ejemplo, para mejorar la actividad de ADCC y CDC de los anticuerpos, (4) les confieren otras propiedades fisicoquímicas o funcionales a estos análogos, o bien modifican las propiedades mencionadas, sin que se altere la unión específica a CCL20 humano, (5) eliminan la lisina en el extremo C o (6) agregan o eliminan sitios de glucosilación.

[0130] En un aspecto, en la invención se provee un polipéptido novedoso que comprende la cadena pesada o liviana de un anticuerpo de esta invención, o bien una porción que contiene un dominio variable de la cadena pesada o de la cadena

liviana. Este polipéptido es útil porque puede asociarse a la cadena liviana o pesada de otro anticuerpo, respectivamente, para formar un anticuerpo anti-CCL20.

[0131] En la presente se describen anticuerpos humanizados novedosos que neutralizan CCL20 y que comprenden las CDR de un anticuerpo anti-CCL20 humano de ratón novedoso, así como porciones de unión al antígeno de dichos anticuerpos humanizados. El término "anticuerpo anti-CCL20 humanizado", tal como se lo emplea en la presente, hace referencia a un anticuerpo que comprende una o más CDR (la CDR1, la CDR2 y la CDR3) de un anticuerpo anti-CCL20 de origen no humano, que también se conoce en la presente como el anticuerpo donante (que por ejemplo, puede ser un anticuerpo anti-CCL20 de ratón), y al menos una porción de una secuencia humana. La porción humana del anticuerpo puede abarcar una o más regiones del marco de trabajo (por ejemplo, todas las regiones del marco de trabajo) y/o una parte de una región constante. En algunas formas de realización, la secuencia de la región del marco de trabajo humana comprende una secuencia de la línea germinal, pero también puede incluir mutaciones que están ausentes en la línea germinal. Un anticuerpo anti-CCL20 que comprende las seis CDR de un anticuerpo anti-CCL20 no humano injertadas en un marco de trabajo humano es un ejemplo de un anticuerpo anti-CCL20 humanizado de la invención. Véanse, por ejemplo, Cabilly *et al.*, Patente de los EE. UU. n.º 4816567; Cabilly *et al.*, Patente Europea n.º 0 125 023 B1; Boss *et al.*, Patente de los EE. UU. n.º 4816397; Boss *et al.*, Patente Europea n.º 0 120 694 B1; Neuberger, M.S. *et al.*, WO 86/01533; Neuberger, M.S. *et al.*, Patente

Europea n.º 0 194 276 B1; Winter, Patente de los EE. UU. n.º 5225539; Winter, Patente Europea n.º 0 239 400 B1; Padlan, E.A. *et al.*, Solicitud de Patente Europea n.º 0 519 596 A1. Véanse también Ladner *et al.*, Patente de los EE. UU. n.º 4946778; Huston, Patente de los EE. UU. n.º 5476786; y Bird *et al.*, *Science* 242:423-426 (1988). En algunas formas de realización, Los anticuerpos humanizados son anticuerpos desinmunizados. Por ejemplo, en Carr *et al.*, Patente de los EE. UU. n.º 7264806, puede hallarse la descripción de anticuerpos desinmunizados que han sido modificados para reducir la cantidad de epitopes potenciales para las células T, con lo que se reduce la probabilidad de que los anticuerpos provoquen una respuesta inmune cuando se los administre a un ser humano.

[0132] En formas de realización particulares, el anticuerpo humanizado comprende una o más CDR de la cadena liviana y/o una o más CDR de la cadena pesada de uno o más de los siguientes anticuerpos monoclonales anti-CCL20 humano murinos: 36F7C10, 42G5B10 y 40-1C10B9, donde las CDR se identifican de acuerdo con el sistema Kabat, el sistema de Chotia o cualquier combinación de estos. En algunas formas de realización, el anticuerpo humanizado comprende las tres CDR de la cadena pesada y las tres CDR de la cadena liviana del anticuerpo 36F7C10, 42G5B10 o 40-1C10B9.

[0133] En otra forma de realización, los anticuerpos humanizados presentan la especificidad de unión de un anticuerpo anti-CCL20 humano murino de la invención (por ejemplo, presentan especificidad por un epitope idéntico o similar en CCL20 humano) y/o presentan actividad de neutralización. Los anticuerpos

humanizados pueden presentar la especificidad de unión, la especificidad por los epitopes y/o la actividad de neutralización de un anticuerpo anti-CCL20 humano murino, quimérico o humanizado como los que se describen en la presente. Por ejemplo, un anticuerpo humanizado de la invención puede competir con un anticuerpo anti-CCL20 humano murino, quimérico o humanizado por la unión a CCL20 humano, y/o puede presentar la función de neutralización de un anticuerpo anti-CCL20 humano murino, quimérico o humanizado. En una forma de realización particular, el anticuerpo humanizado presenta la especificidad de unión, la especificidad por los epitopes y/o la actividad de neutralización de cualquiera de los siguientes anticuerpos de ratón: 36F7C10, 42G5B10 y 40-1C10B9.

[0134] La porción de la secuencia humana del anticuerpo humanizado (por ejemplo, la región del marco de trabajo, la región constante) puede provenir de cualquier anticuerpo humano apropiado. Por ejemplo, la región constante humana en un anticuerpo humanizado o quimérico, o una porción de esta, puede estar codificada por el gen de una cadena liviana κ o λ humana y/o por el gen de una cadena pesada γ (por ejemplo, γ1, γ2, γ3, γ4), μ, α (por ejemplo, α1, α2), δ o ε humana, incluyendo las variantes alélicas. El isotipo particular de la región constante humana (por ejemplo, IgG1, IgG2) o de la variante o la porción de esta puede seleccionarse con el objeto de obtener una función efectora deseada. Por ejemplo, puede incorporarse una región constante mutada (es decir, una variante) en el anticuerpo para reducir la unión a un receptor Fc y/o la probabilidad de fijar el complemento (véanse, por ejemplo, Winter *et al.*, GB 2209757 B; Morrison *et al.*, WO 89/07142; Morgan *et al.*, WO 94/29351).

[0135] Tal como se lo emplea en la presente, el término "línea germinal" hace referencia a las secuencias de nucleótidos de los genes de los anticuerpos, a las secuencias de aminoácidos que codifican y a sus segmentos, en la forma en que son transmitidas desde los progenitores hasta la progenie, a través de las células germinales. La secuencia de la línea germinal es diferente de las secuencias de nucleótidos que codifican los diversos anticuerpos en las células B, ya que estas han sido alteradas por acontecimientos de recombinación e hipermutación durante la maduración por afinidad. Un anticuerpo que "usa" una línea germinal particular tiene una secuencia de nucleótidos o de aminoácidos que es más cercana a la secuencia de nucleótidos o la secuencia de aminoácidos de la línea germinal en cuestión, en comparación con otras líneas germinales. Estos anticuerpos pueden estar codificados por una secuencia que presenta pocas mutaciones con relación a la secuencia de la línea germinal, o bien pueden comprender dicha secuencia.

[0136] En algunas formas de realización, el marco de trabajo humano presenta una variación mínima en comparación con la secuencia de la línea germinal, por ejemplo, presenta reemplazos en menos de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 residuos aceptores para mejorar una o más propiedades del anticuerpo. En algunas formas de realización, los residuos aceptores del marco de trabajo se reemplazan por residuos donantes, por ejemplo, para mejorar la afinidad de unión (véase, por ejemplo, Queen *et al.*, Patente de los EE. UU. n.º 5530101). En una forma de realización particular, se selecciona una cantidad limitada de aminoácidos en el marco de trabajo de una cadena de un anticuerpo humanizado (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos) para que sean idénticos a los aminoácidos que

se encuentran en las mismas posiciones en la secuencia donante (es decir, se realiza una "retromutación"), y no a los aminoácidos en la secuencia aceptora, con el propósito de incrementar la afinidad de un anticuerpo que comprenda la cadena humanizada por CCL20 humano.

[0137] Las regiones del marco de trabajo humano (que por ejemplo, pueden ser regiones variables de las cadenas pesadas y/o livianas) preferiblemente se obtienen o derivan de una secuencia de la línea germinal humana que es similar a la porción análoga o equivalente (que por ejemplo, puede ser la región variable de la cadena pesada o liviana) de la región de unión al antígeno del anticuerpo donante (que por ejemplo, puede ser un anticuerpo anti-CCL20 murino). Otras fuentes de regiones del marco de trabajo apropiadas para las porciones humanas de la secuencia de un anticuerpo humanizado incluyen las secuencias consenso de la región variable humana (véanse, por ejemplo, Kettleborough *et al.*, *Protein Engineering* 4:773-783 (1991); Carter *et al.*, WO 94/04679; Carter, Patente de los EE. UU. n.º 6407213). Por ejemplo, la región de la secuencia donante del anticuerpo (por ejemplo, la secuencia de la región variable) que se emplea para obtener la porción no humana puede compararse con las secuencias humanas como se describe en Kabat, E. A. *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, quinta edición, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE. UU., Oficina de Impresión del Gobierno de los EE. UU. (1991), para seleccionar una fuente particular de porciones humanas para el anticuerpo humanizado, por ejemplo, una fuente de regiones del marco de trabajo.

[0138] En una forma de realización, las regiones del marco de trabajo de las cadenas del anticuerpo humanizado se obtienen o derivan de una región variable

de una Ig humana que presenta al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 55 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 65 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 % de identidad de secuencia general con la región variable del anticuerpo donante no humano. En una forma de realización particular, las regiones del marco de trabajo de las cadenas del anticuerpo humanizado se obtienen o derivan de una región variable de una Ig humana que presenta al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 55 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 65 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 % de identidad de secuencia general con las regiones del marco de trabajo de la región variable del anticuerpo donante no humano.

[0139] En una forma de realización, al menos una de las regiones del marco de trabajo (FR) del anticuerpo humanizado se obtiene o deriva de una o más cadenas de una secuencia humana. Por consiguiente, las FR pueden incluir una FR1, una FR2, una FR3 y/o una FR4 que se obtiene o deriva de uno o más anticuerpos humanos (por ejemplo, de una cadena de un anticuerpo humano o de una secuencia consenso humana).

[0140] Aquellos versados en la técnica han de apreciar que, en algunos casos, los residuos que rodean las una o más CDR de los anticuerpos anti-CCL20 murinos pueden contribuir directa o indirectamente a la función (por ejemplo, la unión) o

pueden ser esenciales para la función. Por consiguiente, en algunas formas de realización, en el anticuerpo humanizado también se incluyen uno o más de los aminoácidos que rodean una o más de las CDR del marco de trabajo murino (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más de los aminoácidos circundantes).

[0141] En algunas formas de realización, las regiones del marco de trabajo de la cadena pesada humana de los anticuerpos humanizados de esta invención comprenden una secuencia IGHV1-46*03 de la línea germinal humana. En algunas formas de realización, las regiones del marco de trabajo de la cadena liviana humana de los anticuerpos humanizados de esta invención comprenden una secuencia IGKV1D-39*01 de la línea germinal humana. Opcionalmente, puede haber mutaciones (por ejemplo, retromutaciones) en uno o más de los residuos de estas regiones FR, tal como se describe en la sección de ejemplos más adelante, con el propósito de mejorar la afinidad de unión por CCL20 del anticuerpo humanizado.

[0142] El término "afinidad" es conocido en la técnica y hace referencia a la fuerza que presenta una interacción de unión. Típicamente, hace referencia a la fuerza general que presenta la unión entre el anticuerpo y el antígeno. La afinidad que presenta el anticuerpo por el antígeno típicamente se expresa como la constante de la afinidad de unión en el equilibrio (K_D), que se aplica a la interacción entre un anticuerpo y un antígeno en particular.

[0143] En algunas formas de realización, el anticuerpo se une a CCL20 humano con una afinidad (K_D; K_D = K_{off} (kd)/Kon (ka)) de 500 pM o menos, 400 pM o menos, 300 pM o menos, 200 pM o menos, 100 pM o menos, 90 pM o menos, 80

pM o menos, 70 pM o menos, 60 pM o menos, 50 pM o menos o 45 pM o menos, lo cual puede determinarse con una resonancia de plasmón superficial monovalente; o de 12 pM o menos, de 10 pM o menos, de 8 pM o menos, de 6 pM o menos o de 5 pM o menos, cuando se la determina con una resonancia de plasmón superficial bivalente. En algunas formas de realización, el anticuerpo se une a CCL20 humano con una k_a de 1000 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos, 900 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos, 800 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos, 700 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos, 600 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos, 500 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos, 400 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos, 300 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos, 240 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos, 200 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos, 190 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos, 180 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos, 170 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos, 160 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos o 150 x 10^5 M^{-1} segundo^{-1} o menos, según la determinación de una resonancia de plasmón superficial monovalente (Biacore™). En algunas formas de realización, el anticuerpo se une a CCL20 humano con una k_d de 1000 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 900 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 800 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 700 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 600 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 500 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 400 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 300 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 240 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 200 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 190 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 180 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 170 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 160 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 150 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 140 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 130 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 120 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 100 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 90 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 80 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 70 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos o 65 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos lo cual puede

determinarse con una resonancia de plasmón superficial monovalente (Biacore™).

[0144] Como ha de resultar evidente para aquellos versados en la técnica, es posible usar diversos métodos para confirmar que los anticuerpos que se producen de acuerdo con los métodos que se proveen en la presente o con métodos conocidos en la técnica, y las porciones de unión al antígeno de estos, presentan la especificidad requerida (por ejemplo, la especificidad de unión o la especificidad con relación a los epitopes). Por ejemplo, la función de unión de un anticuerpo anti-CCL20 humanizado de la invención, o de una porción de este, que presenta especificidad de unión por CCL20 humano, puede determinarse con cualquier método apropiado, por ejemplo, con ensayos para monitorear la formación de un complejo entre el anticuerpo humanizado o una porción de este y CCL20 humano (o por ejemplo, un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos similar a la de CCL20 o un soporte sólido que comprende CCL20 humano).

[0145] La capacidad de un anticuerpo de la invención, o de una porción de unión al antígeno de este (por ejemplo, un anticuerpo humanizado de la invención o una porción de este), de unirse al mismo epitope en CCL20 humano que un anticuerpo monoclonal humanizado murino o quimérico como los que se describen en la presente, o de unirse a un epitope en CCL20 humano que está superpuesto con el epitope en CCL20 humano al que se une un anticuerpo monoclonal humanizado murino o quimérico como los que se describen en la presente, puede determinarse con facilidad usando una variedad de procedimientos conocidos en la técnica, lo que abarca, por ejemplo, los ensayos de unión competitiva. En estos ensayos,

puede usarse una forma marcada del anticuerpo en cuestión para medir la unión entre el anticuerpo marcado y CCL20 humano, en presencia o ausencia de un anticuerpo de la invención.

[0146] Un "epitope", tal como se lo emplea en la presente, abarca cualquier determinante proteico de la unión específica a un anticuerpo. En la técnica se conocen métodos para caracterizar el epitope al que se une un anticuerpo. En el ejemplo 9 se describe un método para caracterizar un epitope al que se une un anticuerpo anti-CCL20 de la invención. Una vez que se determina un epitope deseado en un antígeno, es posible generar anticuerpos contra dicho epitope, por ejemplo, usando las técnicas que se describen en la presente invención. Como alternativa, durante el proceso de descubrimiento, mediante la generación y la caracterización de los anticuerpos puede obtenerse información sobre los epitopes deseables. Con esta información, es posible realizar un análisis competitivo de la unión entre los anticuerpos y el epitope. Por ejemplo, aquellos versados en la técnica han de poder llevar a cabo estudios de competición para determinar cuáles anticuerpos pueden competir por la unión al antígeno.

[0147] En una forma de realización, para determinar si un anticuerpo de prueba, o una porción de unión al antígeno de este, se une al mismo epitope que un anticuerpo humanizado de esta invención, o a un epitope superpuesto con él, se permite que el anticuerpo anti-CCL20 de la invención se una a CCL20 bajo condiciones de saturación y luego se mide la capacidad del anticuerpo de prueba de unirse a CCL20. Si el anticuerpo de prueba puede unirse a CCL20 simultáneamente con el anticuerpo anti-CCL20 de referencia, puede concluirse

que el anticuerpo de prueba se une a un epitope que es diferente del epitope al que se une el anticuerpo anti-CCL20 de referencia. Sin embargo, si el anticuerpo de prueba no puede unirse a CCL20 simultáneamente con el anticuerpo anti-CCL20 de referencia, puede concluirse que el anticuerpo de prueba puede unirse al mismo epitope, a un epitope superpuesto o a un epitope que está cerca del epitope al que se une el anticuerpo anti-CCL20 de la invención. Este experimento puede ponerse en práctica usando, por ejemplo, ensayos de ELISA, de RIA, Biacore™ o de citometría de flujo. Para determinar si un anticuerpo anti-CCL20 compite de manera transversal con otro anticuerpo anti-CCL20, puede usarse el método de competición que se describió con anterioridad en dos direcciones, lo que abarca determinar si el anticuerpo de referencia bloquea el anticuerpo de prueba y si el anticuerpo de prueba bloquea el anticuerpo de referencia. En algunas formas de realización, el experimento se lleva a cabo con un análisis Biacore™.

[0148] La unión a los epitopes también puede ser útil para caracterizar los anticuerpos de esta invención. En este caso, el término "unión" hace referencia a un método para agrupar los anticuerpos sobre la base de sus características de unión al antígeno. En la Solicitud de Patente Internacional n.º WO 03/48731 se describe un proceso de alto desempeño para "unir" los anticuerpos sobre la base de su capacidad de competir de manera transversal. La "unión a los epitopes" puede analizarse llevando a cabo la unión de una forma no marcada de un anticuerpo anti-CCL20 "A" con un péptido sintético con una secuencia similar a la de CCL20 o con células positivas para CCL20. Después, se agrega un segundo

anticuerpo anti-CCL20 marcado "B" y se determina la cantidad del anticuerpo marcado que se une, en comparación con una muestra control, donde las células o el péptido sintético no han sido expuestos con antelación al anticuerpo anti-CCL20 "A." Como alternativa, es posible marcar los anticuerpos anti-CCL20 "A" y "B" con distintos fluorocromos o sustancias químicas para permitir la detección, para luego medir las cantidades de los anticuerpos marcados que pueden unirse simultáneamente al péptido CCL20, para lo cual se emplea un dispositivo con el que puede detectarse la marca o un dispositivo con el que puede ponerse en práctica una citometría de flujo, con el propósito de determinar la cantidad de los dos anticuerpos que se unen simultáneamente a las células positivas para CCL20. Con las tecnologías Biacore™ y Octet puede investigarse la unión competitiva de las formas no marcadas de los anticuerpos. Resulta deseable usar formas no marcadas de los anticuerpos, ya que mediante la modificación química de algunos anticuerpos puede comprometerse la actividad de unión. Véase también la tecnología que se describe en Jia *et al.*, *J. Immunol. Methods* 288:91-98 (2004), que también es útil para analizar la unión a los epitopes.

[0149] En la presente también se proveen porciones de los anticuerpos anti-CCL20 de la invención, por ejemplo, cadenas livianas, cadenas pesadas y porciones de las cadenas livianas y pesadas. Estas porciones de anticuerpos pueden obtenerse o derivar de anticuerpos (por ejemplo, mediante procesos de reducción y/o escisión) o pueden producirse o expresarse a través de ácidos nucleicos que codifican una porción de un anticuerpo, o de una cadena de este, que presenta una propiedad deseada (por ejemplo, la unión a CCL20 humano, la

similitud a nivel de la secuencia). Las porciones pueden prepararse, por ejemplo, por medio de la síntesis *de novo* del fragmento relevante. Los anticuerpos humanizados que comprenden las porciones deseadas (por ejemplo, la región de unión al antígeno, la CDR, la FR, la región C), que pueden ser de origen humano o no humano, pueden producirse usando ácidos nucleicos sintéticos y/o recombinantes, con los que pueden prepararse construcciones (por ejemplo, ADNc) que codifican la cadena del anticuerpo humanizado deseado. Por ejemplo, para preparar una porción de un anticuerpo (por ejemplo, una porción de una cadena), pueden introducirse uno o más codones de terminación en la posición deseada en la secuencia de aminoácidos. Las secuencias de ácidos nucleicos (por ejemplo, de ADN) que codifican las regiones variables humanizadas pueden construirse usando métodos de mutagénesis por PCR, de manera tal de alterar las secuencias de ADN existentes (véase, por ejemplo, Kamman *et al.*, *Nucl. Acids Res.* 17:5404 (1989)). Los cebadores de PCR que codifiquen las nuevas CDR podrán hacerse hibridar con un molde de ADN de una región variable que haya sido humanizada con antelación, que podrá estar basada en una región variable humana idéntica o muy similar (Sato *et al.*, *Cancer Research* 53:851-856 (1993)). Si no hay una secuencia de ADN similar disponible para usarla como molde, puede construirse un ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica un fragmento de la región variable a partir de oligonucleótidos sintéticos (véase, por ejemplo, Kolbinger, *Protein Engineering* 8:971-980 (1993)). También es posible incorporar una secuencia que codifica un péptido señal (una "secuencia señal") en el ácido nucleico (por ejemplo, durante la síntesis o la inserción en el

vector). Si no hay una secuencia de un péptido señal disponible (por ejemplo, si típicamente no está presente), puede usarse la secuencia del péptido señal de otro anticuerpo (véase, por ejemplo, Kettleborough, *Protein Engineering* 4:773-783 (1991)). Las variantes pueden producirse fácilmente usando estos métodos, los métodos que se describen en la presente u otros métodos apropiados.

[0150] Tal como se la emplea en la presente, la sigla "mAb" (o "MAb") hace referencia a un anticuerpo monoclonal, que puede ser, por ejemplo, un anticuerpo que es sintetizado por una población clonal de células o un anticuerpo humanizado. Una población clonal que produce un anticuerpo monoclonal puede ser una población clonal de células inmortalizadas. En algunas formas de realización, las células inmortalizadas en la población clonal son células híbridas (hibridomas), que típicamente se producen mediante la fusión de linfocitos B individuales provenientes de un animal que fue inmunizado con células individuales de un tumor linfocítico.

[0151] la invención se relaciona en parte con un anticuerpo humanizado, o con una porción de unión al antígeno de este, que presenta especificidad de unión por CCL20 humano y que comprende una cadena liviana humanizada y una cadena pesada humanizada, y/o porciones de estas. En una forma de realización, el anticuerpo humanizado comprende una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 7 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 1; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 7 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo,

las tres CDR) de SEQ ID N.º 2; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 7 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 3; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 7 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 4; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 7 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 5; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 7 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 6; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 8 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 1; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 8 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 2; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 8 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 3; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 8 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 4; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 8 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 5; o una

cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 8 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 6.

[0152] En una forma de realización, un anticuerpo humanizado de la invención comprende la CDR1 de la cadena pesada (H), la H-CDR2, la H-CDR3, la CDR1 de la cadena liviana (L), la L-CDR2 y la L-CDR3, cuyas secuencias de aminoácidos pueden ser

a) SEQ ID N.º 60, 64, 67, 70, 73 y 75, respectivamente;

b) SEQ ID N.º 60, 64, 67, 71, 73 y 75, respectivamente;

c) SEQ ID N.º 60, 63, 67, 70, 73 y 75, respectivamente;

d) SEQ ID N.º 60, 63, 67, 71, 73 y 75, respectivamente;

e) SEQ ID N.º 61, 65, 68, 70, 73 y 75, respectivamente;

f) SEQ ID N.º 61, 65, 68, 71, 73 y 75, respectivamente;

g) SEQ ID N.º 77, 79, 67, 70, 73 y 75, respectivamente;

h) SEQ ID N.º 77, 79, 67, 71, 73 y 75, respectivamente;

i) SEQ ID N.º 78, 80, 68, 70, 73 y 75, respectivamente; y

j) SEQ ID N.º 78, 80, 68, 71, 73 y 75, respectivamente.

[0153] En otra forma de realización, un anticuerpo humanizado de esta invención comprende una H-CDR3 cuya secuencia es SEQ ID N.º 67 o 68. En determinadas formas de realización, un anticuerpo humanizado de esta invención comprende una H-CDR3 y una L-CDR3 cuyas secuencias son SEQ ID N.º 67 y 75, respectivamente; o SEQ ID N.º 68 y 75, respectivamente.

[0154] En otra forma de realización, el anticuerpo humanizado presenta

especificidad de unión por CCL20 humano y comprende una cadena liviana que comprende una o más CDR seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID N.º 70 o 71, 73 y 75, o una combinación de estas; y una cadena pesada que comprende una o más CDR seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID N.º 60, 61, 77 o 78, 63, 64, 65, 79 u 80 y 67 o 68, o una combinación de estas.

[0155] En otra forma de realización, el anticuerpo humanizado que presenta especificidad de unión por CCL20 humano comprende una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 7, 8, 110 o 112, y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 108.

[0156] la invención también se relaciona con una cadena liviana que proviene de un anticuerpo humanizado como los que se describen en la presente. En una forma de realización, la cadena liviana del anticuerpo humanizado comprende una o más CDR seleccionadas del grupo que consiste en 70 o 71, 73 y 75, o una combinación de estas. Por ejemplo, el anticuerpo humanizado comprende una L-CDR1, una L-CDR2 y una L-CDR3 cuyas secuencias de aminoácidos son SEQ ID N.º 70, 73 y 75, respectivamente, o SEQ ID N.º 71, 73 y 75, respectivamente.

[0157] la invención también se relaciona con una cadena pesada que proviene de un anticuerpo humanizado como los que se describen en la presente. En una forma de realización, la cadena pesada del anticuerpo humanizado comprende una o más CDR seleccionadas del grupo que consiste en 60, 61, 77 o 78, 63, 64, 65, 79 u 80 y 67 o 68, o una combinación de estas. Por ejemplo, el anticuerpo humanizado puede comprender una H-CDR1, una H-CDR2 y una H-CDR3 con

secuencias de aminoácidos como las que se detallan a continuación:

a) SEQ ID N.º 60, 63 y 67;

b) SEQ ID N.º 60, 64 y 67;

c) SEQ ID N.º 61, 65 y 68;

d) SEQ ID N.º 77, 79 y 67; o

e) SEQ ID N.º 78, 80 y 68.

[0158] En una forma de realización, un anticuerpo humanizado de esta invención comprende una cadena liviana que comprende un dominio variable (V_L) que tiene la secuencia de SEQ ID N.º 15 o 16. En una forma de realización relacionada, el anticuerpo humanizado comprende una cadena liviana cuya secuencia de aminoácidos comprende SEQ ID N.º 7, 8, 110 o 112 o consiste en dicha secuencia. En una forma de realización, el anticuerpo humanizado comprende una cadena liviana cuya secuencia de aminoácidos comprende SEQ ID N.º 7 u 8, pero sin la secuencia señal, o consiste en dicha secuencia.

[0159] En una forma de realización, un anticuerpo humanizado de esta invención comprende una cadena pesada que comprende un dominio variable (V_H) que tiene la secuencia de SEQ ID N.º 9-14. En una forma de realización relacionada, el anticuerpo humanizado comprende una cadena pesada cuya secuencia de aminoácidos comprende una de SEQ ID N.º 1-6 y 108, o consiste en dicha secuencia. En una forma de realización, el anticuerpo humanizado comprende una cadena pesada cuya secuencia de aminoácidos comprende una de SEQ ID N.º 1-6, pero sin la secuencia señal y opcionalmente sin la lisina en el extremo C, o consiste en dicha secuencia. En una forma de realización, el anticuerpo

humanizado comprende una cadena pesada cuya secuencia de aminoácidos comprende una de SEQ ID N.º 108, pero sin la lisina en el extremo C, o consiste en dicha secuencia.

[0160] En algunas formas de realización, un anticuerpo humanizado de esta invención comprende un dominio V_H y un dominio V_L que comprenden las secuencias de aminoácidos que se detallan a continuación, o consisten en ellas:

a) SEQ ID N.º 9 y SEQ ID N.º 15;

b) SEQ ID N.º 10 y SEQ ID N.º 15;

c) SEQ ID N.º 11 y SEQ ID N.º 15;

d) SEQ ID N.º 12 y SEQ ID N.º 15;

e) SEQ ID N.º 13 y SEQ ID N.º 15;

f) SEQ ID N.º 14 y SEQ ID N.º 15;

g) SEQ ID N.º 9 y SEQ ID N.º 16;

h) SEQ ID N.º 10 y SEQ ID N.º 16;

i) SEQ ID N.º 11 y SEQ ID N.º 16;

j) SEQ ID N.º 12 y SEQ ID N.º 16;

k) SEQ ID N.º 13 y SEQ ID N.º 16; o

l) SEQ ID N.º 14 y SEQ ID N.º 16.

[0161] En una forma de realización, un anticuerpo humanizado de esta invención comprende una cadena liviana (LC) y una cadena pesada (HC) que comprenden las secuencias de aminoácidos que se detallan a continuación, o consisten en ellas:

a) SEQ ID N.º 1 y SEQ ID N.º 7;

b) SEQ ID N.º 2 y SEQ ID N.º 7;

c) SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 7;

d) SEQ ID N.º 4 y SEQ ID N.º 7;

e) SEQ ID N.º 5 y SEQ ID N.º 7;

f) SEQ ID N.º 6 y SEQ ID N.º 7;

g) SEQ ID N.º 1 y SEQ ID N.º 8;

h) SEQ ID N.º 2 y SEQ ID N.º 8;

i) SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 8;

j) SEQ ID N.º 4 y SEQ ID N.º 8;

k) SEQ ID N.º 5 y SEQ ID N.º 8;

l) SEQ ID N.º 6 y SEQ ID N.º 8.

m) SEQ ID N.º 108 y SEQ ID N.º 111; y

n) SEQ ID N.º 108 y SEQ ID N.º 112;

donde estas secuencias de aminoácidos carecen de la secuencia señal, y donde SEQ ID N.º 1-6 y SEQ ID N.º 108 opcionalmente carecen de la lisina en el extremo C.

[01622] En la presente invención se provee cualquier combinación que comprende una cadena pesada humanizada como las que se describen a modo de ejemplo en la presente, o una porción de unión al antígeno de esta, y una cadena liviana humanizada como las que se describen a modo de ejemplo en la presente, o una porción de unión al antígeno de esta. En otras palabras, es posible combinar las cadenas pesadas y las cadenas livianas. Ha de comprenderse que es probable que las combinaciones resultantes retengan la capacidad de unirse a CCL20

humano y la actividad de neutralización de la quimiotaxis. Estas propiedades funcionales pueden evaluarse con facilidad usando los métodos que se describen en la presente. En efecto, en la figura 7 se ilustra la actividad de neutralización de diversas combinaciones de cadenas pesadas y cadenas livianas que se describen a modo de ejemplo en la presente.

[01633] En esta invención también se proveen anticuerpos anti-CCL20 humano, o porciones de unión al antígeno de estos, que se unen a los mismos epitopes que un anticuerpo como los que se describen a modo de ejemplo en la presente, o que compiten o compiten de manera transversal con él. Estos anticuerpos pueden ser, por ejemplo, anticuerpos humanizados, quiméricos o de ratón. Por ejemplo, en la invención se proveen anticuerpos anti-CCL20 humano, y porciones de estos, que se unen al mismo epitope que los anticuerpos anti-CCL20 de ratón 36F7C10, 40-1C10B9 y 42G5B10 o las versiones humanizadas o quiméricas de estos, o que compiten o compiten de manera transversal con ellos. La capacidad de un anticuerpo de unirse al mismo epitope que un anticuerpo de referencia, o de competir o competir de manera transversal con él, puede determinarse como se describe en la presente. A modo de ejemplo no limitativo, se espera que cualquier anticuerpo o cualquier porción de anticuerpo que comprenda las tres CDR de la cadena pesada y las tres CDR de la cadena liviana del anticuerpo de ratón 36F7C10 pueda unirse al mismo epitope que el anticuerpo de ratón 36F7C10, o que pueda competir o competir de manera transversal con él. Estos anticuerpos pueden incluir, por ejemplo, los anticuerpos cuya cadena pesada comprende cualquiera de SEQ ID N.º 9-11 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 15 o

16. En algunas formas de realización, estos anticuerpos también pueden incluir, por ejemplo, los anticuerpos cuya cadena pesada comprende cualquiera de SEQ ID N.º 12-14 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 15 o 16.

[0164] Si resulta deseable, por ejemplo, para propósitos de diagnóstico o de ensayo (por ejemplo, en un diagnóstico por imágenes o en el monitoreo de una terapia), el anticuerpo humanizado (o una porción de unión al antígeno de este) puede comprender una marca detectable. Las marcas detectables apropiadas y los métodos para marcar los anticuerpos humanizados o las porciones de unión al antígeno de estos son bien conocidos en la técnica. Las marcas detectables apropiadas abarcan, por ejemplo, los radioisótopos (por ejemplo, el indio 111, el tecnecio 99m o el iodo 131), las marcas que emiten positrones (por ejemplo, el flúor 19), los iones paramagnéticos (por ejemplo, el gadolinio (III) o el manganeso (II)), las marcas en forma de epitopes, las marcas de afinidad (por ejemplo, la biotina o la avidina), la marcas de espín, las enzimas, los grupos fluorescentes y los grupos quimioluminiscentes. Cuando no se emplean marcas, la formación de los complejos (por ejemplo, entre un anticuerpo humanizado y CCL20 humano) puede determinarse con métodos de resonancia de plasmón superficial, de ELISA o de FACS, o con otros métodos apropiados.

[0165] Los anticuerpos anti-CCL20 o que se usan en la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, también pueden conjugarse, por ejemplo, por medio de reacciones químicas o modificaciones genéticas, con otras unidades (por ejemplo, unidades de pegilación), con el propósito de mejorar su farmacocinética, por ejemplo, su vida media. En algunas formas de realización, los anticuerpos anti-

CCL20 que se usan en esta invención pueden unirse a una citoquina apropiada, por ejemplo, por medio de una conjugación química o una modificación genética (por ejemplo, uniendo la secuencia que codifica la citoquina en el mismo marco con la secuencia que codifica el anticuerpo, con lo que se crea una proteína de fusión con el anticuerpo y la citoquina).

[0166] la invención también se relaciona con inmunoconjugados donde el anticuerpo humanizado de la invención (o una porción de unión al antígeno de este) está unido a otro agente terapéutico, que puede ser un compuesto bioactivo (por ejemplo, una citoquina, un superantígeno, un agente citotóxico o una toxina). Por ejemplo, el anticuerpo humanizado que presenta especificidad de unión por CCL20 humano (o por una porción de unión al antígeno de este) puede unirse a una proteína biológica, a una molécula proveniente de una planta o de una bacteria (o a un derivado de esta), a un anticuerpo contra la interleuquina-2 o a un anticuerpo contra la toxina de la difteria.

[0167] Tal como se describe en la presente, se han producido anticuerpos monoclonales de ratón que presentan especificidad de unión por CCL20 humano. Los anticuerpos humanizados y quiméricos de esta invención pueden derivar de los anticuerpos monoclonales de ratón de esta invención. Vale decir, en algunas formas de realización, los anticuerpos anti-CCL20 humanizados y quiméricos de la invención comprenden secuencias que provienen de un anticuerpo monoclonal de ratón de la invención, por ejemplo, una o más secuencias de las CDR (por ejemplo, las seis CDR) o de uno o más de los dominios variables (por ejemplo, del dominio variable de la cadena pesada o del dominio variable de la cadena liviana).

[0168] Tal como se lo emplea en la presente, el término "anticuerpo monoclonal de ratón" hace referencia a un anticuerpo que contiene las CDR de la cadena liviana (L-CDR1, L-CDR2 y L-CDR3) y las CDR de la cadena pesada (H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3) de un anticuerpo murino, así como regiones del marco de trabajo y constantes de origen murino.

[0169] la invención se relaciona con los anticuerpos monoclonales de ratón que se describen en la presente, así como con porciones de unión al antígeno de estos anticuerpos monoclonales de ratón, con cadenas livianas provenientes de estos anticuerpos monoclonales de ratón, con cadenas pesadas provenientes de estos anticuerpos monoclonales de ratón y con porciones de las cadenas pesadas y las cadenas livianas mencionadas. En una forma de realización particular, el anticuerpo monoclonal de ratón es 36F7C10, 40-1C10B9 o 42G5B10. La invención se relaciona con anticuerpos monoclonales de ratón que carecen de la secuencia señal en la cadena pesada y en la cadena liviana y con anticuerpos monoclonales de ratón que están glucosilados. la invención también se relaciona con anticuerpos precursores, con anticuerpos no glucosilados y con anticuerpos cuyas cadenas pesadas y/o livianas comprenden las secuencias señal. la invención también se relaciona con moléculas de ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las cadenas pesadas o las cadenas livianas de los anticuerpos que se mencionaron con anterioridad, o porciones de estas, con vectores y células huésped que comprenden dichos ácidos nucleicos, con métodos para producir cualquiera de las cadenas pesadas o las cadenas livianas de los anticuerpos de ratón que se mencionaron con anterioridad, o porciones de estas, y con métodos

para usar los anticuerpos de ratón o las porciones de unión al antígeno de estos.

[0170] La función de unión de un anticuerpo monoclonal de ratón que presenta especificidad de unión por CCL20 humano, o de una porción de unión al antígeno de este, puede analizarse usando cualquier método apropiado, por ejemplo, usando ensayos para monitorear la formación de un complejo entre un anticuerpo monoclonal de ratón o una porción de este y CCL20 humano (o por ejemplo, un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos similar a la de CCL20 o un soporte sólido que comprende CCL20 humano).

[0171] En la presente también se proveen porciones de los anticuerpos murinos, que incluyen las cadenas livianas, las cadenas pesadas y las porciones de las cadenas livianas y de las cadenas pesadas. Estas porciones de anticuerpos pueden obtenerse o derivar de los anticuerpos, para lo cual puede recurrirse, por ejemplo, a los medios que se describen en la presente para las porciones de los anticuerpos humanizados.

[0172] En una forma de realización, un anticuerpo monoclonal de ratón de esta invención comprende una cadena liviana que comprende SEQ ID N.º 40, 42 o 44 y también comprende una cadena pesada que comprende SEQ ID N.º 39, 41 o 43. En una forma de realización determinada, el anticuerpo monoclonal de ratón comprende una cadena liviana que comprende SEQ ID N.º 40 y una cadena pesada que comprende SEQ ID N.º 39; una cadena liviana que comprende SEQ ID N.º 42 y una cadena pesada que comprende SEQ ID N.º 41; o una cadena liviana que comprende SEQ ID N.º 44 y una cadena pesada que comprende SEQ ID N.º 43.

[0173] En otra forma de realización, la invención también se relaciona con un anticuerpo monoclonal de ratón que presenta especificidad de unión por CCL20 humano, que comprende una región variable de la cadena liviana que tiene una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 40, 42 y 44; y una región variable de la cadena pesada que tiene una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 39, 41 y 43.

[0174] la invención también se relaciona con un anticuerpo monoclonal de ratón cuya cadena liviana comprende la región variable de SEQ ID N.º 40, 42 o 44.

[0175] la invención también se relaciona con un anticuerpo monoclonal de ratón cuya cadena pesada comprende la región variable de SEQ ID N.º 39, 41 o 43.

[0176] Si resulta deseable, por ejemplo, para propósitos de diagnóstico o de ensayo (por ejemplo, en un diagnóstico por imágenes), el anticuerpo monoclonal de ratón (o una porción de unión al antígeno de este) puede comprender una marca detectable, que por ejemplo, puede ser como las que se describieron con anterioridad para los anticuerpos humanizados. Los métodos y los procedimientos apropiados que se describen en la presente, en el contexto de los anticuerpos humanizados de esta invención, también pueden usarse para obtener los anticuerpos monoclonales de ratón de la invención.

[0177] Tal como se describe en la presente, se han producido anticuerpos quiméricos que presentan especificidad de unión por CCL20 humano. Tal como se lo emplea en la presente, el término "anticuerpo quimérico" hace referencia a una proteína recombinante que contiene los dominios variables de un anticuerpo que deriva de una especie y los dominios constantes de un anticuerpo que deriva de

una especie diferente. En una forma de realización, el anticuerpo quimérico con especificidad de unión por CCL20 humano comprende dominios variables de un anticuerpo monoclonal de ratón anti-CCL20 humano. En una forma de realización, el anticuerpo quimérico con especificidad de unión por CCL20 humano comprende los dominios constantes de un anticuerpo humano. En una forma de realización particular, el anticuerpo quimérico comprende los dominios variables de un anticuerpo monoclonal de ratón anti-CCL20 humano y los dominios constantes de un anticuerpo humano.

[0178] la invención se relaciona con los anticuerpos quiméricos que se describen en la presente, así como con porciones de unión al antígeno de estos anticuerpos quiméricos, con cadenas livianas y cadenas pesadas provenientes de estos anticuerpos quiméricos y con porciones de las cadenas pesadas y las cadenas livianas mencionadas. la invención se relaciona con anticuerpos quiméricos que carecen de la secuencia señal en la cadena pesada y en la cadena liviana y con anticuerpos quiméricos que están glucosilados. la invención también se relaciona con anticuerpos precursores, con anticuerpos no glucosilados y con anticuerpos cuyas cadenas pesadas y/o livianas comprenden las secuencias señal. la invención también se relaciona con moléculas de ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las cadenas pesadas o las cadenas livianas de los anticuerpos que se mencionaron con anterioridad, o porciones de estas, con vectores y células huésped que comprenden dichos ácidos nucleicos, con métodos para producir cualquiera de las cadenas pesadas o las cadenas livianas de los anticuerpos quiméricos que se mencionaron con anterioridad, o porciones de estas, y con

métodos para usar los anticuerpos quiméricos.

[0179] La función de unión de un anticuerpo quimérico que presenta especificidad de unión por CCL20 humano puede analizarse usando cualquier método apropiado, por ejemplo, usando ensayos para monitorear la formación de un complejo entre un anticuerpo quimérico y CCL20 humano (o por ejemplo, un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos similar a la de CCL20 o un soporte sólido que comprende CCL20 humano).

[0180] En la presente también se proveen porciones de los anticuerpos quiméricos, que incluyen las cadenas livianas, las cadenas pesadas y las porciones de las cadenas livianas y de las cadenas pesadas. Estas porciones de anticuerpos pueden obtenerse o derivar de los anticuerpos, para lo cual puede recurrirse, por ejemplo, a los medios que se describen en la presente para las porciones de los anticuerpos humanizados.

[0181] En una forma de realización, un anticuerpo quimérico de esta invención comprende la región variable de la cadena liviana de SEQ ID N.º 40 y la región variable de la cadena pesada de SEQ ID N.º 39; la región variable de la cadena liviana de SEQ ID N.º 42 y la región variable de la cadena pesada de SEQ ID N.º 41; o la región variable de la cadena liviana de SEQ ID N.º 44 y la región variable de la cadena pesada de SEQ ID N.º 43.

[0182] la invención también se relaciona con un anticuerpo quimérico que presenta especificidad de unión por CCL20 humano, que comprende una región variable de la cadena liviana que tiene una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 40, 42 o 44; y que también comprende una región

variable de la cadena pesada que tiene una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 39, 41 o 43.

[0183] la invención también se relaciona con una cadena liviana quimérica que comprende una región variable como la que se detalla en SEQ ID N.º 40, 42 o 44.

[0184] la invención también se relaciona con una cadena pesada quimérica que comprende una región variable como la que se detalla en SEQ ID N.º 39, 41 o 43.

[0185] Si resulta deseable, por ejemplo, para propósitos de diagnóstico o de ensayo (por ejemplo, en un diagnóstico por imágenes), el anticuerpo quimérico (o una porción de unión al antígeno de este) puede comprender una marca detectable, que por ejemplo, puede ser como las que se describen en la presente para los anticuerpos humanizados. Los métodos y los procedimientos apropiados que se describen en la presente, en el contexto de los anticuerpos humanizados de esta invención, también pueden usarse para obtener los anticuerpos quiméricos de la invención.

[0186] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20 de la invención es un anticuerpo completamente humano. Tal como se lo emplea en la presente, el término "anticuerpo humano" hace referencia a un anticuerpo donde las secuencias de los dominios variables y constantes son secuencias humanas. El término abarca aquellos anticuerpos que comprenden secuencias que derivan de genes humanos, pero que han sido modificadas, por ejemplo, para disminuir la inmunogenicidad potencial, para incrementar la afinidad, para eliminar las cisteínas que podrían provocar pliegues indeseables, etcétera. El término también abarca los anticuerpos que se producen por medios recombinantes en células no

humanas, que pueden producir una glucosilación inusual para las células humanas. En la técnica se conocen métodos para preparar anticuerpos completamente humanos. Por ejemplo, los anticuerpos anti-CCL20 humano pueden identificarse con métodos in vitro, tales como la presentación en fagos, la presentación en ribosomas (CAT), la presentación en levaduras y semejantes, o pueden producirse a partir de una célula B humana o un hibridoma humano. Como alternativa, los anticuerpos humanos pueden producirse por medio de una inmunización con un antígeno de CCL20 en diversos animales transgénicos no humanos, en cuyos genomas puede haber loci que codifican algunas o la totalidad de las cadenas pesadas y las cadenas livianas de las inmunoglobulinas humanas. En algunas formas de realización, el animal no humano que comprende genes que codifican inmunoglobulinas humanas es un animal que comprende un "minilocus" de una inmunoglobulina humana (que por ejemplo, puede obtenerse en GenPharm International, Inc.). En algunas formas de realización, los anticuerpos anti-CCL20 humano se producen usando un sistema XENOMOUSE® (Abgenix, Inc., Fremont, CA), un sistema basado en ratones HuMAb® (Medarex, Inc.), un sistema basado en ratones VelocImmune® (Regeneron Pharmaaceuticals, Inc.), un sistema basado en ratones AlivaMab (Ablexis, LLC), un sistema basado en ratones KM™ (Kirin Pharma USA, Inc.), o semejantes.

[0187] La presente invención también se relaciona con ácidos nucleicos aislados y/o recombinantes que comprenden secuencias que codifican un anticuerpo humanizado, o una cadena liviana o una cadena pesada de este, un anticuerpo monoclonal de ratón, o una cadena liviana o una cadena pesada de este, un

anticuerpo quimérico, o una cadena liviana o una cadena pesada de este, o porciones de unión al antígeno de cualquiera de los anteriores, cada uno de los cuales tiene las características que se describen en la presente. En algunas formas de realización, en la presente invención se provee una secuencia de ácido nucleico que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 17-32, 51-56, 109, 111 y 113.

[0188] En algunas formas de realización, las moléculas de ácidos nucleicos de la invención incluyen secuencias de ácidos nucleicos que hibridan bajo condiciones muy severas con una o más de las secuencias de ácidos nucleicos que se describen en la presente, o con una secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de cualquiera de los dominios V_H o V_L que se mencionaron con anterioridad, o bien secuencias que son al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idénticas a las secuencias mencionadas.

[0189] En la presente, los ácidos nucleicos que se califican como "aislados" o "purificados" son ácidos nucleicos que han sido separados del ARN genómico o del ARN celular que pueden estar presentes en la fuente (por ejemplo, en las células o en una mezcla de ácidos nucleicos, por ejemplo, una biblioteca), y abarcan los ácidos nucleicos que pueden obtenerse con métodos como los que se describen en la presente o con otros métodos apropiados. En algunas formas de realización, los ácidos nucleicos aislados son ácidos nucleicos esencialmente puros, son ácidos nucleicos que se producen por medio de una síntesis química, son ácidos nucleicos que se producen con combinaciones de métodos biológicos y químicos o son ácidos nucleicos recombinantes aislados (véanse, por ejemplo,

Daugherty *et al.*, *Ácidos nucleicos Res.* 19(9):2471-2476 (1991); Lewis y Crowe, *Gene* 101:297-302 (1991)).

[0190] Una referencia a una secuencia de nucleótidos abarca su complemento, a menos que se indique lo contrario. Por lo tanto, ha de interpretarse que una referencia a un ácido nucleico que tiene una secuencia particular abarca su cadena complementaria, es decir, la secuencia complementaria. El término "polinucleótido", tal como se lo emplea en la presente, hace referencia a una molécula polimérica, que puede estar aislada, que está compuesta por 10 bases nucleotídicas, que pueden ser ribonucleótidos o desoxinucleótidos, o bien una forma modificada de cualquier tipo de nucleótido. El término abarca las formas de cadena simple y las formas de cadena doble.

[0191] En la presente, los ácidos nucleicos que se califican como "recombinantes" son ácidos nucleicos que se producen con una metodología de ADN recombinante, lo que abarca aquellos ácidos nucleicos que se generan con procedimientos que se basan en métodos de recombinación artificial, tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y/o la clonación en un vector, mediante el uso de enzimas de restricción. En algunas formas de realización, los ácidos nucleicos recombinantes son el resultado de acontecimientos de recombinación que ocurren a través de los mecanismos naturales de las células, pero que son seleccionados después de introducirlos en las células, sobre la base de las características deseadas.

[0192] Más específicamente, la presente invención también se relaciona con ácidos nucleicos aislados y/o recombinantes que comprenden una secuencia de

nucleótidos que codifica un anticuerpo humanizado, un anticuerpo de ratón o un anticuerpo quimérico, o bien una porción de unión al antígeno de dicho anticuerpo, que presenta especificidad de unión por CCL20 humano. En algunas formas de realización, el anticuerpo es un anticuerpo de ratón de acuerdo con la presente invención, un anticuerpo humanizado de acuerdo con la presente invención, en el cual las una o más porciones no humanas derivan de un anti-CCL20 anticuerpo monoclonal murino, o un anticuerpo quimérico de acuerdo con la presente invención, en el cual las una o más porciones no humanas derivan de un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 murino.

[0193] En algunas formas de realización, los ácidos nucleicos de la invención se usan para producir anticuerpos humanizados que presentan especificidad de unión por CCL20 humano, anticuerpos de ratón que presentan especificidad de unión por CCL20 humano o anticuerpos quiméricos que presentan especificidad de unión por CCL20 humano. Por ejemplo, uno o más ácidos nucleicos (que por ejemplo, pueden ser ADN (tal como ADNc) o ARN) que codifican un anticuerpo humanizado, un anticuerpo de ratón o un anticuerpo quimérico de la presente invención pueden incorporarse en una construcción (por ejemplo, un vector recombinante), que puede usarse para manipular secuencias o para producir los anticuerpos codificados en las células huésped apropiadas.

[0194] También se proveen construcciones y vectores apropiados para expresar un anticuerpo humanizado que presenta especificidad de unión por CCL20 humano, un anticuerpo de ratón que presenta especificidad de unión por CCL20 humano o un anticuerpo quimérico que presenta especificidad de unión por CCL20

humano. Hay diversos vectores disponibles, que incluyen los vectores que se mantienen en una sola copia o en múltiples copias en una célula huésped, así como los vectores que se integran en uno o más cromosomas de una célula huésped. Las construcciones y los vectores pueden introducirse en una célula huésped apropiada, y las células donde se expresa un anticuerpo humanizado, un anticuerpo de ratón o un anticuerpo quimérico de la presente invención pueden producirse y mantenerse en un cultivo. Pueden usarse uno o más vectores para expresar un anticuerpo humanizado, un anticuerpo de ratón o un anticuerpo quimérico que presenta especificidad de unión por CCL20 humano.

[0195] Los vectores de expresión apropiados, por ejemplo, los vectores de expresión que pueden emplearse en células de mamíferos, también pueden contener numerosos componentes, que pueden abarcar, sin limitaciones, uno o más de los siguientes: un origen de replicación, un gen marcador de selección, uno o más elementos para controlar la expresión, por ejemplo, un elemento para controlar la transcripción (por ejemplo, un promotor, un potenciador, un terminador), una o más señales para dirigir la traducción y/o una secuencia señal o una secuencia directriz (que codifica un "péptido señal") para realizar el direccionamiento a la membrana o la secreción. En una construcción o en un vector, la secuencia señal puede introducirse por medio de una construcción, un vector u otra fuente. Por ejemplo, para dirigir la expresión pueden usarse señales apropiadas para activar la transcripción y/o la traducción de un anticuerpo.

[0196] En algunas formas de realización, se provee un promotor para expresar un anticuerpo o una cadena de un anticuerpo de la invención en una célula huésped

apropiada. En algunas formas de realización, el promotor es constitutivo. En algunas formas de realización, el promotor es inducible. El promotor puede estar unido operativamente a un ácido nucleico que codifica un anticuerpo, una cadena de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de un anticuerpo o de una cadena de un anticuerpo, de manera tal que dirige la expresión del polipéptido codificado. Hay diversos promotores disponibles que son apropiados para emplearlos en huéspedes procariotas (por ejemplo, los promotores lac, tac, T3 o T7 para *E. coli*) o eucariotas (por ejemplo, los promotores de la alcohol deshidrogenasa de la levadura (ADH1), SV40 o CMV). Aquellos versados en la técnica han de saber cómo seleccionar un promotor apropiado para expresar un anticuerpo anti-CCL20 de la invención o una porción de unión al antígeno de este.

[0197] En algunas formas de realización, el vector que codifica un anticuerpo o una cadena de un anticuerpo de acuerdo con la invención comprende un marcador para seleccionar las células huésped que contienen el vector. En algunas formas de realización, el marcador de selección es un gen que codifica un producto que confiere resistencia a un antibiótico o a una droga, que puede usarse en células procariotas (por ejemplo, el gen de la β-lactamasa (que confiere resistencia a la ampicilina), el gen Tet (que confiere resistencia a la tetraciclina), etcétera) o eucariotas (por ejemplo, los genes que confieren resistencia a la neomicina (G418 o geneticina), a gpt (el ácido micofenólico), a la ampicilina o a la higromicina). En algunas formas de realización, el marcador de selección es la dihidrofolato reductasa, con la que puede realizarse una selección con metotrexato en una variedad de huéspedes. En algunas formas de realización, el marcador de

selección es un gen que codifica un marcador auxotrófico del huésped (por ejemplo, LEU2, URA3, HIS3), que por ejemplo, puede usarse en levaduras. En algunas formas de realización, el vector es un vector para virus (por ejemplo, un baculovirus) o para fagos. En una forma de realización, el vector puede integrarse en el genoma de la célula huésped (por ejemplo, es un vector retroviral). En algunas formas de realización, el vector puede replicarse y comprende un origen de replicación.

[0198] Por consiguiente, la invención se relaciona con moléculas de ácidos nucleicos aisladas que codifican un anticuerpo humanizado, una cadena liviana humanizada, una cadena pesada humanizada, un anticuerpo de ratón, una cadena liviana de un anticuerpo de ratón, una cadena pesada de un anticuerpo de ratón, un anticuerpo quimérico, una cadena liviana quimérica o una cadena pesada quimérica de acuerdo con invención. la invención también se relaciona con moléculas de ácidos nucleicos aisladas que codifican una porción de unión al antígeno de cualquiera de estos anticuerpos o de sus cadenas. En la descripción precedente y en la sección de ejemplos se describen secuencias de polipéptidos que están codificados por ácidos nucleicos de acuerdo con la invención.

[0199] En algunas formas de realización, un ácido nucleico o un vector de esta invención codifican una cadena pesada (o una porción de unión al antígeno de esta) o una cadena liviana (o una porción de unión al antígeno de esta) de acuerdo con la invención. Una célula huésped que contiene un ácido nucleico que codifica una cadena pesada y un ácido nucleico que codifica una cadena liviana, o bien una célula huésped que contiene un ácido nucleico que codifica porciones de

unión al antígeno de dicha cadena pesada y de dicha cadena liviana, puede usarse para obtener un anticuerpo que comprende una cadena pesada y una cadena liviana (o una porción de unión al antígeno de dicho anticuerpo). El ácido nucleico que codifica la cadena pesada y el ácido nucleico que codifica la cadena liviana pueden colocarse en vectores de expresión separados. También es posible colocarlos en un único vector de expresión, con la expresión bajo el control de elementos idénticos o diferentes. Véanse, por ejemplo, las Patentes de los EE. UU. N.º 6331415 y 7662623.

[0200] Otro aspecto de la invención se relaciona con un método para elaborar un anticuerpo anti-CCL20 humano de acuerdo con la invención, o una porción de unión al antígeno de este. El anticuerpo, o la porción de este, puede producirse, por ejemplo, expresando los uno o más ácidos nucleicos recombinantes que codifican el anticuerpo, o la porción de este, en una célula huésped apropiada. La célula huésped puede producirse usando cualquier método apropiado. Por ejemplo, pueden introducirse una o más de las construcciones de expresión que se describen en la presente en una célula huésped apropiada, y la célula resultante puede mantenerse bajo condiciones apropiadas para expresar las una o más construcciones o los uno o más vectores. En algunas formas de realización, la célula resultante se mantiene en un cultivo, en un animal o en una planta. Las células huésped apropiadas pueden ser procariotas, lo que abarca las bacterias, tales como *E. coli* (por ejemplo, la cepa DH5α™ (Invitrogen, Carlsbad, CA)), *B. subtilis* y/u otra bacteria apropiada, o pueden ser células eucariotas, tales como células fúngicas o de levadura (por ejemplo, *Pichia pastoris*, *Aspergillus sp.*,

Saccharomyces cerevisiae, *Schizosaccharomyces pombe*, *Neurospora crassa*), células de otros eucariotas inferiores o células de eucariotas superiores, por ejemplo, células de insectos (por ejemplo, las células S2 de *Drosophila*, Schneider, las células Sf9 (WO 94/26087 (O'Connor)), las células TN5B1-4 (HIGH 5; Invitrogen)), de mamíferos (por ejemplo, las células COS, tales como COS-1 (n.º de Acceso de la ATCC CRL-1650) y COS-7 (n.º de Acceso de la ATCC CRL-1651), las células CHO (por ejemplo, n.º de Acceso de la ATCC CRL-9096), las células CHO DG44 (Urlaub y Chasin., *Proc. Natl. Acac. Sci. USA* 77(7):4216-4220 (1980)), las células 293 (n.º de Acceso de la ATCC CRL-1573), las células HeLa (n.º de Acceso de la ATCC CCL-2), las células CV1 (n.º de Acceso de la ATCC CCL-70), las células WOP (Dailey *et al.*, *J. Virol.* 54:739-749 (1985)), las células 3T3, las células 293T (Pear *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:8392-8396 (1993)), las células NS0, las células SP2/0, las células HuT 78 y semejantes) o de plantas (por ejemplo, células de tabaco, de tabaco, de lemna (lenteja de agua) o de un alga). Véase, por ejemplo, Ausubel *et al.*, editores, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates y John Wiley & Sons Inc. (1993). En algunas formas de realización, la célula huésped no es parte de un organismo multicelular (por ejemplo, una planta o un animal). En determinadas formas de realización, la célula huésped es una célula huésped aislada o es parte de un cultivo de células.

[0201] La presente invención también se relaciona con células que comprenden un ácido nucleico o un vector de acuerdo con la invención. En algunas formas de realización, el vector es un vector de expresión. En algunas formas de realización,

pueden introducirse uno o más ácidos nucleicos que codifican la cadena pesada y la cadena liviana de un anticuerpo humanizado o de una porción de unión al antígeno de este, la cadena pesada y la cadena liviana de un anticuerpo de ratón o de una porción de unión al antígeno de este o la cadena pesada y la cadena liviana de un anticuerpo quimérico o de una porción de unión al antígeno de este, donde dichos anticuerpos o dichas porciones presentan especificidad de unión por CCL20 humano, o bien una o más construcciones que comprenden los ácidos nucleicos que se mencionaron con anterioridad, en una célula huésped apropiada, de acuerdo con un método apropiado. En algunas formas de realización, el método con el que se efectúa la introducción, abarca, por ejemplo, una transformación, una transfección, una electroporación o una infección. En algunas formas de realización, los uno o más ácidos nucleicos están unidos operativamente a uno o más elementos para controlar la expresión. En determinadas formas de realización, los uno o más ácidos nucleicos se encuentran en un vector, en una construcción creada por procesos que ocurren en las células o en una construcción que se ha integrado en el genoma de la célula huésped. Las células huésped pueden mantenerse bajo condiciones apropiadas para la expresión. En algunas formas de realización, estas condiciones comprenden la presencia de un inductor o de un medio apropiado (por ejemplo, uno que comprende sales, factores de crecimiento, antibióticos, suplementos nutritivos u otros componentes apropiados), de manera tal que se producen los uno o más polipéptidos codificados. Este proceso abarca la expresión en una célula huésped (por ejemplo, una célula de las glándulas mamarias) de un animal

o una planta transgénica (por ejemplo, el tabaco; véase, por ejemplo, WO 92/03918). En algunas formas de realización, los anticuerpos o las porciones de estos se aíslan de las células huésped, del medio de cultivo o de la leche.

[0202] La invención también se relaciona con proteínas de fusión que comprenden un anticuerpo de acuerdo con la invención, o una porción de este (por ejemplo, un anticuerpo humanizado o una porción de este), unido a otra unidad (por ejemplo, una unidad que no se encuentra en los anticuerpos en la naturaleza) hacia el extremo N, hacia el extremo C o en una localización interna de la proteína de fusión. En algunas formas de realización, la proteína de fusión puede producirse insertando un ácido nucleico que codifica una o más secuencias de anticuerpos en un vector de expresión apropiado, que puede ser un vector pET (por ejemplo, pET-15b, Novagen), un vector para fagos (por ejemplo, pCANTAB 5 E, Pharmacia) o un vector de otro tipo (por ejemplo, el vector pRIT2T fusionado con la proteína A, Pharmacia). La construcción resultante puede introducirse en una célula huésped apropiada para expresarla. En algunas formas de realización, las proteínas de fusión expresadas se aíslan o se purifican a partir de un lisado celular, usando una matriz de afinidad apropiada (véase, por ejemplo, *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel *et al.*, editores, Vol. 2, supl. 26, pp. 16.4.1-16.7.8 (1991)).

[0203] La invención se relaciona con una célula huésped que comprende uno o más ácidos nucleicos recombinantes que codifican un anticuerpo como los que se proveen en la presente, una porción de este, una cadena pesada de este y/o una cadena liviana de este (por ejemplo, un anticuerpo humanizado, una cadena

liviana humanizada, una cadena pesada humanizada, un anticuerpo de ratón, una cadena liviana de ratón, una cadena pesada de ratón, un anticuerpo quimérico, una cadena pesada quimérica o una cadena liviana quimérica de acuerdo con la invención). la invención también se relaciona con una célula huésped que comprende uno o más ácidos nucleicos recombinantes que codifican una porción de unión al antígeno de un anticuerpo o de una de sus cadenas. En algunas formas de realización, la célula huésped comprende un vector recombinante de acuerdo con la invención, tal como los que se describen en la presente. En algunas formas de realización, el vector recombinante es un vector de expresión. En determinadas formas de realización, el vector recombinante es un vector para efectuar la expresión en células de mamíferos.

[0204] La invención también se relaciona con un método para preparar un anticuerpo de acuerdo con la invención, o bien una porción, una cadena pesada o una cadena liviana de este. En una forma de realización, el método comprende mantener una célula como las que se describen en la presente bajo condiciones apropiadas para expresar el anticuerpo, o la porción, la cadena pesada y/o la cadena liviana de este. En algunas formas de realización, la célula huésped contiene uno o más ácidos nucleicos aislados que codifican el anticuerpo de acuerdo con la invención, o la porción, la cadena pesada y/o la cadena liviana de este. En algunas formas de realización, la célula huésped se cultiva en un sustrato o en una suspensión. En algunas formas de realización, el método también comprende un paso en el que se purifica el anticuerpo o una cadena del anticuerpo.

[0205] La invención también se relaciona con un método para preparar anticuerpos o porciones de unión al antígeno de estos por medio de una presentación en fagos. En algunas formas de realización, se analiza una biblioteca de anticuerpos presentados en fagos con el antígeno CCL20. En algunas formas de realización, se usa un método para preparar anticuerpos que está basado en una selección guiada (véase, por ejemplo, la Publicación de Patente de los EE. UU. n.º US 2006-0251658 A1). En determinadas formas de realización, se crea una biblioteca a medida, que se construye sobre la base, por ejemplo, de la región CDR3 fija de una cadena pesada (y/o una cadena liviana) de un anticuerpo anti-CCL20 conocido. Las regiones CDR1 y CDR2 de la cadena pesada y de la cadena liviana pueden derivar de un repertorio no estimulado (Osburn *et al.*, *Methods* 36:61-68 (2005)). En una forma de realización, se generan fragmentos scFv de anticuerpos anti-CCL20 a partir de bibliotecas que comprenden fragmentos scFv de anticuerpos no estimulados, y luego se los usa para obtener anticuerpos quiméricos de ratón-humanos que presentan las propiedades de unión deseadas, los cuales pueden buscarse en las bibliotecas. En algunas formas de realización, se usan bibliotecas de fragmentos scFv de anticuerpos en fagos. En determinadas formas de realización, se aíslan fragmentos scFv de anticuerpos que reconocen CCL20 a partir de bibliotecas que comprenden fragmentos scFv de anticuerpos, por medio de un procedimiento de selección guiada, después de una serie de ciclos de selección repetidos con CCL20 humano recombinante, esencialmente como se describe en Vaughan *et al. Nature Biotech.* 14:309-314 (1996). En resumen, después de la incubación con la biblioteca, puede aislarse el antígeno

inmovilizado, que fue unido con antelación a esferas paramagnéticas, y el fago unido, para lo cual puede recurrirse a una separación magnética, de manera tal de eliminar el fago no unido con un lavado. Después, puede rescatarse el fago unido como se describe en Vaughan *et al.* (1996, supra) y puede repetirse el proceso de selección.

[0206] En una forma de realización particular, se construye una biblioteca que consiste en el dominio variable completo de la cadena pesada de un anticuerpo de ratón anti-CCL20, fusionado en un formato de cadena simple con un repertorio de regiones variables de cadenas livianas humanas no estimuladas. Después de la selección, se identifican las regiones variables de las cadenas livianas humanas complementarias de las regiones variables de las cadenas pesadas de ratón. Se construye una biblioteca que consiste en el repertorio de regiones variables de cadenas livianas humanas que se seleccionaron con anterioridad, fusionadas en un formato de cadena simple a una región variable de la cadena pesada quimérica que consiste en regiones CDR1 y CDR2 humanas no estimuladas y una región CDR3 fija del dominio variable de la cadena pesada de un anticuerpo anti-CCL20 de ratón. Una vez que se realiza la selección de los componentes que se unen a CCL20, se eligen los mejores clones. Cinco de las seis regiones CDR pueden ser de origen humano, mientras que la CDR3 de la región variable de la cadena pesada puede ser idéntica a la CDR3 original del dominio variable de la cadena pesada de ratón.

[0207] En algunas formas de realización, se llevan a cabo selecciones con CCL20 unido a DYNABEADS M-270 de amina (Dynal), de acuerdo con las

recomendaciones del fabricante. En algunas formas de realización, pueden realizarse selecciones con CCL20 biotinilado, usando el reactivo específico para aminas primarias hexanoato de succinimidil-6-(biotinamido), de acuerdo con las instrucciones del fabricante (biotina EZ link NHS LC, Pierce).

[0208] En algunas formas de realización, se someten las selecciones resultantes a ensayos de competición de alto desempeño, en forma de preparaciones periplasmáticas, con el objeto de determinar la capacidad de los fragmentos scFv presentes de competir por la unión a CCL20.

[0209] La secuencia del ADN de las muestras que pueden competir en los ensayos de alto desempeño puede analizarse como se describe en Vaughan *et al.* (1996, supra); y Osburn *et al.* (2005, supra). Pueden expresarse y purificarse los clones como fragmentos scFv o como IgG, para luego evaluar su capacidad de unirse a CCL20, de neutralizar CCL20 o de presentar una combinación de estas funciones. Para ello, pueden emplearse, por ejemplo, ensayos donde se analiza la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) o la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). Después, pueden elaborarse preparaciones de fragmentos scFv purificados como se describe en el ejemplo 3 de WO 01/66754. Las concentraciones de las proteínas en las preparaciones de fragmentos scFv purificados pueden determinarse usando el método BCA (Pierce). Puede recurrirse a abordajes similares para buscar los miembros de unión óptimos (las cadenas opuestas) para una cadena pesada o una cadena liviana completa y fija de un anticuerpo o para un dominio variable completo y fijo de una cadena pesada o una cadena liviana de un anticuerpo.

[0210] En otra forma de realización, primero se selecciona un anticuerpo anti-CCL20 humano como los que se describen en la presente, o una porción de unión al antígeno de este, que tiene cadenas pesadas y livianas con secuencias tales que presentan una actividad de unión similar por CCL20, de acuerdo con los métodos de impresión de epitopes que se describen en la Publicación PCT n.º WO 93/06213, que se incorpora en la presente a modo de referencia. En determinadas formas de realización, las bibliotecas de anticuerpos que se usan en este método son bibliotecas de fragmentos scFv que se preparan y se analizan como se describe en la Publicación PCT n.º WO 92/01047; McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-554 (1990); y Griffiths *et al.*, *EMBO J.* 12:725-734 (1993), todos los cuales se incorporan en la presente a modo de referencia. En determinadas formas de realización, las bibliotecas de fragmentos scFv de anticuerpos se analizan usando CCL20 humano como antígeno.

[0211] Una vez que se seleccionan los dominios V_L y V_H iniciales, pueden realizarse experimentos de combinación donde se analiza la unión a CCL20 con diversos pares de segmentos de los dominios V_L y V_H que se seleccionaron inicialmente, de manera tal de obtener las mejores combinaciones de pares de dominios V_L/V_H. Adicionalmente, para mejorar aún más la calidad del anticuerpo, pueden someterse los segmentos de los dominios V_L y V_H de los pares preferidos a una mutación al azar, en un proceso análogo al proceso de mutación somática *in vivo* en el que tiene lugar la maduración por afinidad de los anticuerpos durante una respuesta inmune natural. En algunas formas de realización, las mutaciones al azar ocurren dentro de la región CDR3 del dominio V_H y/o V_L. En determinadas

formas de realización, esta maduración por afinidad *in vitro* se efectúa, por ejemplo, amplificando los dominios V_H y V_L con cebadores de PCR complementarios de la CDR3 del dominio V_H o de la CDR3 del dominio V_L, respectivamente, donde los cebadores han sido "tratados" con una mezcla al azar de las cuatro bases nucleotídicas, por lo que los productos que se obtienen con la PCR codifican segmentos de los dominios V_H y V_L en cuyas regiones CDR3 se han introducido mutaciones al azar. Después, puede analizarse nuevamente la unión a CCL20 con los segmentos de los dominios V_H y V_L en los que se han introducido mutaciones al azar.

[0212] Una vez que se ha analizado un anticuerpo anti-CCL20 de la invención y se lo aislado a partir de una biblioteca de presentación de anticuerpos recombinantes, pueden recuperarse los ácidos nucleicos que codifican el anticuerpo seleccionado de la presentación (por ejemplo, del genoma del fago), para luego subclonarlos en otros vectores de expresión, de acuerdo con técnicas de ADN recombinante convencionales. En algunas formas de realización, el ácido nucleico se somete a una manipulación adicional para crear un anticuerpo diferente, de acuerdo con otras formas de realización de la invención, según se describe en la presente. En determinadas formas de realización, para expresar un anticuerpo humano recombinante que ha sido aislado a partir de una biblioteca de combinación, se clona el ADN que codifica el anticuerpo en un vector de expresión recombinante y se lo introduce en células huésped de mamíferos, tal como se describe en la presente.

[0213] En una forma de realización particular, en la invención se provee un

método para producir un hibridoma que secreta un anticuerpo monoclonal que presenta especificidad de unión por CCL20 humano, que comprende administrarle linfocitos de un ratón transgénico para CCL20 a un ratón no transgénico de una cepa idéntica (por ejemplo, CD1) a la del ratón transgénico para CCL20 humano, con lo que se produce un ratón no transgénico inmunizado. Se ponen en contacto esplenocitos del ratón no transgénico inmunizado con células inmortalizadas para producir células de fusión y se mantienen las células de fusión bajo condiciones apropiadas para que los hibridomas secreten un anticuerpo monoclonal que presente especificidad de unión por CCL20 humano, con lo que se produce un hibridoma que secreta un anticuerpo monoclonal que presenta especificidad de unión por CCL20 humano.

[0214] En la presente invención también se proveen métodos para preparar formas mutadas de los anticuerpos anti-CCL20 de acuerdo con la invención, o de porciones de unión al antígeno de estos. En algunas formas de realización, se realizan mutaciones en los dominios variables de las cadenas pesadas y/o las cadenas livianas de los anticuerpos, o de las porciones de estos. En determinadas formas de realización, con estas mutaciones se alteran una o más propiedades de unión de los anticuerpos o de las porciones de estos. En formas de realización particulares, se realiza una mutación en una o más de las regiones CDR para incrementar o disminuir la K_D del anticuerpo anti-CCL20 o de la porción de este, para incrementar o disminuir la k_{off} o para alterar la especificidad de unión del anticuerpo o de la porción de este. En la técnica se conocen procedimientos para realizar una mutagénesis en un sitio determinado. Véanse, por ejemplo, Sambrook

et al. y Ausubel *et al.*, *supra*. En otra forma de realización, se realizan una o más mutaciones en un residuo de aminoácido específico para obtener el aminoácido que presenta el anticuerpo monoclonal de la línea germinal de acuerdo con la invención. En determinadas formas de realización, las mutaciones se realizan en una región CDR o una región del marco de trabajo de un dominio variable o de un dominio constante. En una forma de realización particular, las mutaciones se realizan en un dominio variable. En algunas formas de realización, se realizan una o más mutaciones en residuos de aminoácidos específicos de la región CDR o la región del marco de trabajo para obtener los residuos que presenta el dominio variable de un anticuerpo de la línea germinal de acuerdo con la invención, o una porción de este.

[0215] En otra forma de realización, se muta la región del marco de trabajo para que la región del marco de trabajo resultante tenga la secuencia de aminoácidos del gen de la línea germinal correspondiente. En determinadas formas de realización, se realizan una o más mutaciones en una región del marco de trabajo o en un dominio constante para incrementar la vida media del anticuerpo anti-CCL20 o de una porción de este. Véase, por ejemplo, la Publicación PCT WO 00/09560. En determinadas formas de realización, se realiza una mutación en la región del marco de trabajo o en el dominio constante para alterar la inmunogenicidad del anticuerpo o para introducir un sitio en el que pueda ocurrir una unión covalente o no covalente con otras moléculas. De acuerdo con la invención, un anticuerpo individual, o una porción de este, puede comprender mutaciones en cualquiera de las CDR o las regiones del marco de trabajo del

dominio variable o del dominio constante.

[0216] Los anticuerpos anti-CCL20 de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, pueden producirse con abordajes transgénicos, a través de la generación de mamíferos o plantas transgénicas para las secuencias de la cadena pesada y la cadena pesada del anticuerpo de interés y la producción del anticuerpo en una forma que puede recuperarse. En algunas formas de realización, los anticuerpos anti-CCL20 o las porciones de estos se producen y se recuperan a partir de leche de cabra, de vaca o de otros mamíferos. Véanse, por ejemplo, las Patentes de los EE. UU. n.º 5827690, 5756687, 5750172 y 5741957. En algunas formas de realización, se inmunizan animales no humanos que comprenden loci de anticuerpos humanos con CCL20 humano o con una porción inmunogénica de este, tal como se describió con anterioridad. Se describen métodos para elaborar anticuerpos en plantas, por ejemplo, en las Patentes de los EE. UU. n.º 6046037 y 5959177.

[0217] En algunas formas de realización, las plantas o los animales no humanos transgénicos se producen introduciendo una o más moléculas de ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo anti-CCL20 de acuerdo con la invención, o una porción de este, en la planta o en el animal, de acuerdo con abordajes transgénicos convencionales. Véanse Hogan y la Patente de los EE. UU. n.º 6417429, *supra*. En determinadas formas de realización, las células transgénicas que se emplean para obtener el animal transgénico pueden ser células madre embrionarias, células somáticas u oocitos fertilizados. En algunas formas de realización, las plantas o los animales no humanos transgénicos son plantas o

animales no humanos transgénicos quiméricos, no quiméricos heterocigotas o no quiméricos homocigotas. Véanse, por ejemplo, Hogan *et al.*, *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual* 2ª edición, Cold Spring Harbor Press (1999); Jackson *et al.*, *Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach*, Oxford University Press (2000); y Pinkert, *Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook*, Academic Press (1999). En algunas formas de realización, las plantas o los animales no humanos transgénicos presentan una alteración y un reemplazo específicos, que se producen con una construcción que codifica una cadena pesada y/o una cadena liviana de interés. En determinadas formas de realización, en las plantas o los animales transgénicos se expresan moléculas de ácidos nucleicos que codifican cadenas pesadas y livianas que se unen específicamente a CCL20 humano. Los anticuerpos anti-CCL20, o las porciones de estos, pueden generarse en cualquier planta o animal no humano transgénico. En formas de realización particulares, los animales no humanos son ratones, ratas, ovejas, cerdos, cabras, vacas o caballos. Los polipéptidos codificados pueden expresarse en la leche, la orina, la saliva, las lágrimas, la mucosidad u otros fluidos corporales del animal no humano transgénico.

[0218] Los anticuerpos de acuerdo con la invención, y las porciones de unión al antígeno de estos, son útiles para neutralizar la quimiotaxis inducida por CCL20, por ejemplo, en células CCR6+, tales como las células dendríticas (DC) inmaduras, las células T efectoras o de memoria y las células B. Por consiguiente, los anticuerpos y las porciones de estos pueden ser útiles para tratar diversas enfermedades y afecciones, que pueden ser inflamaciones, enfermedades

autoinmunes o cánceres. Los ejemplos de enfermedades y afecciones que pueden tratarse con los anticuerpos de acuerdo con la invención, o con las porciones de unión al antígeno de estos, incluyen, sin limitaciones, la enfermedad de Graves, el vitíligo, el hipertiroidismo, la artritis reumática, la psoriasis, la dermatitis atópica, la dermatitis de contacto, la enfermedad de Crohn, la enfermedad intestinal inflamatoria, las afecciones malignas de las células B, el adenocarcinoma de mama, la hepatitis crónica, el glioblastoma, el carcinoma hepatocelular, las infecciones de papilomavirus humanos en el cuello uterino, las micosis fungoides, el adenocarcinoma pancreático, la enfermedad periodontal, el carcinoma papilar en la tiroides, la pustulosis en las palmas y en las plantas de los pies, las afecciones relacionadas con el exantema maculopapular, la epidermólisis bulbosa, la alopecia areata, la esclerosis múltiple, la polimiositis, la dermatomiositis, la enfermedad de Behcet, la pustulosis exantematosa generalizada aguda, los vasculítidos, la artritis idiopática juvenil, la sarcoidosis, el asma bronquial, la rinitis alérgica, el rechazo de aloinjertos renales, la enfermedad del injerto contra el huésped, el rechazo de aloinjertos hepáticos, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la fibrosis quística, la glomerulonefritis, las infecciones del virus sincicial respiratorio, el mieloma múltiple y la histiocitosis en las células de Langerhans. En algunas formas de realización, en la invención se proveen métodos para tratar cualquier afección asociada a CCR6.

[0219] Por lo tanto, en la invención se proveen métodos para tratar una inflamación, una enfermedad autoinmune o un cáncer, que comprenden administrarle una cantidad eficaz de un anticuerpo de acuerdo con la invención, o

de una porción de este, a un sujeto que lo necesita. En algunas formas de realización, el sujeto es un paciente humano que padece una enfermedad autoinmune, un cáncer y/o una inflamación, o que se encuentra en riesgo de contraerla. En algunas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de este, se administra con fines profilácticos, para prevenir el inicio o la recurrencia de una inflamación, de una enfermedad autoinmune o de un cáncer.

[0220] Los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, pueden administrársele a un individuo (por ejemplo, a un ser humano) solos o en combinación con otro agente, en una terapia combinada. Los anticuerpos, o las porciones de estos, pueden administrarse antes del agente adicional, simultáneamente con él o después de él. En algunas formas de realización, el agente adicional se selecciona, sin limitaciones, del siguiente grupo: los inhibidores de las citoquinas que estimulan el sistema inmune (por ejemplo, los anticuerpos monoclonales anti-TNF-α), los agentes que eliminan las células inmunes (por ejemplo, los anticuerpos monoclonales anti-CD20), los bloqueadores de las moléculas de acceso (por ejemplo, Abatacept), los agentes que modifican las enfermedades reumáticas (por ejemplo, las drogas antiinflamatorias no esteroidales (NSAID), el metotrexato, el ácido retinoico y los análogos de la vitamina D3) y los inmunosupresores (por ejemplo, los inhibidores de la calcineurina). En algunas formas de realización, el agente adicional se selecciona, sin limitaciones, del siguiente grupo: los agentes esteroidales, los agentes inmunomoduladores, los agentes somatostáticos, los agentes inmunoterapéuticos convencionales, las citoquinas o los antagonistas de citoquinas y/o los factores de

crecimiento o los antagonistas de factores de crecimiento. En algunas formas de realización, puede usarse una terapia con anticuerpos anti-CCL20 en combinación con un tratamiento convencional contra el cáncer, tal como la quimioterapia, la cirugía o la radiación, o con otra terapia dirigida, tal como una terapia con anticuerpos anti-VEGF. En algunas formas de realización, puede emplearse una terapia con anticuerpos anti-CCL20 en combinación con un régimen profiláctico. En una forma de realización, puede administrarse un péptido sintético mimético en combinación con un anticuerpo de la presente invención. En otra forma de realización, puede administrarse una terapia con hormonas en combinación con un anticuerpo de acuerdo con la presente invención, o con una porción de este.

[0221] En una forma de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran solos o en combinación con un agente antiinflamatorio. Los agentes antiinflamatorios que pueden administrarse con los anticuerpos de la invención incluyen, sin limitaciones, los corticosteroides (por ejemplo, la betametasona, la budesonida, la cortisona, la dexametasona, la hidrocortisona, la metilprednisolona, la prednisolona, la prednisona y la triamcinolona), las drogas antiinflamatorias no esteroidales (por ejemplo, la balsalazida, el celecoxib, el diclofenac, el diflunisal, el etodolac, el fenoprofeno, la floctafenina, el flurbiprofeno, el ibuprofeno, la indometacina, el cetoprofeno, el meclofenamato, el ácido mefenámico, el meloxicam, la nabumetona, el naproxeno, la olsalazina, la oxaprozina, la fenilbutazona, el piroxicam, el salsalato, el sulindac, el tenoxicam, el ácido tiaprofénico y la tolmetina), el acetaminofeno, los antihistamínicos, los derivados

del ácido aminoarilcarboxílico, los derivados del ácido arilacético, los derivados del ácido arilbutírico, los ácidos arilcarboxílicos, los derivados del ácido arilpropiónico, los pirazoles, las pirazolonas, los derivados del ácido salicílico (por ejemplo, la sulfasalazona y la mesalamina), las tiazincarboxamidas, el ácido e-acetamidocaproico, la S-adenosilmetionina, el ácido 3-amino-4-hidroxibutírico, la amixetrina, el bendazac, la bencidamina, la bucoloma, la difenpiramida, el ditazol, la emorfazona, el guaiazuleno, la nabumetona, la nimesulida, la orgoteína, el oxaceprol, la paranilina, el perisoxal, la pifoxima, la proquazona, el proxazol y el tenidap.

[0222] Los agentes inmunosupresores no específicos convencionales que pueden administrarse en combinación con los anticuerpos de la invención incluyen, sin limitaciones, los esteroides, las ciclosporinas, los análogos de ciclosporinas, la ciclofosfamida, la metilprednisona, la prednisona, la azatioprina, FK-506, la 15-deoxispergualina, el natalizumab y otros agentes inmunosupresores que actúan suprimiendo la función de las células T que participan en las respuestas.

[0223] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con inmunosupresores. Las preparaciones de inmunosupresores que pueden administrarse con los anticuerpos de la invención incluyen, sin limitaciones, ORTHOCLONE™ (OKT3), SANDIMMUNE™/NEORAL™/SANGDYA™ (ciclosporina), PROGRAF™ (tacrolimus), CELLCEPT™ (micofenolato), la azatioprina, los glucorticosteroides, AVONEX™ (interferón beta-1A) y RAPAMUNE™ (sirolimus). En una forma de

realización, los inmunosupresores pueden usarse para prevenir el rechazo de trasplantes de órganos o de médula ósea.

[0224] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con un agente quimioterapéutico. Los agentes quimioterapéuticos que pueden administrarse con los anticuerpos de la invención incluyen, sin limitaciones, los derivados de antibióticos (por ejemplo, la doxorrubicina, la bleomicina, la daunorrubicina y la dactinomicina), los antiestrógenos (por ejemplo, el tamoxifeno), los antimetabolitos (por ejemplo, el fluorouracilo, el 5-FU, la floxuridina, el interferón alfa-2b, el ácido glutámico, la plicamicina, la mercaptopurina y la 6-tioguanina), los agentes citotóxicos (por ejemplo, la carmustina, el BCNU, la lomustina, el CCNU, el arabinósido de citosina, la ciclofosfamida, la estramustina, la hidroxiurea, la procarbazina, la mitomicina, el busulfán, el cisplatino y el sulfato de vincristina), las hormonas (por ejemplo, la medroxiprogesterona, el fosfato de estramustina de sodio, el etinil estradiol, el estradiol, la epinefrina, el acetato de megestrol, la metiltestosterona, el difosfato de dietilstilbestrol, el clorotrianiseno y la testolactona), los derivados de mostazas de nitrógeno (por ejemplo, el mefaleno, el clorambucil, la mecloretamina (una mostaza de nitrógeno) y el tiotepa), los esteroides, las combinaciones de los anteriores (por ejemplo, el fosfato de betametasona de sodio) y otros (por ejemplo, la dicarbazina, la asparraginasa, el mitotano, el sulfato de vincristina, el sulfato de vinblastina, el rituximab y el etopósido).

[0225] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la

invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con un antagonista del TNF. Los antagonistas del TNF que pueden administrarse con los anticuerpos de acuerdo con la invención, o con las porciones de unión al antígeno de estos, incluyen, sin limitaciones, el infliximab (REMICADE™), el adalimumab (HUMIRA™), el certolizumab pegol (CIMZIA™), el golimumab (SIMPONI™), el etanercept (ENBREL™), los derivados de xantina (por ejemplo, la pentoxifilina) y el bupropión (WELLBURTIN™, ZYBAN™).

[0226] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran solos o en combinación con una o más preparaciones de inmunoglobulinas intravenosas. Las preparaciones de inmunoglobulinas intravenosas que pueden administrarse con los anticuerpos de acuerdo con la invención, o con las porciones de estos, incluyen, sin limitaciones, GAMMAR™, IVEEGAM™, SANDOGLOBULIN™, GAMMAGARD S/D™ y GAMIMUNE™. En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con preparaciones de inmunoglobulinas intravenosas en la terapia de los trasplantes (que por ejemplo, pueden ser trasplantes de médula ósea).

[0227] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con citoquinas o con antagonistas de citoquinas. En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, pueden administrarse con cualquier citoquina o con

cualquier antagonista de citoquinas, lo que abarca, sin limitaciones, la IL2, la IL3, la IL4, la IL5, la IL6, la IL7, la IL10, la IL12, la IL13, la IL15, los anticuerpos anti-CD40, CD40L, el IFN-γ y el TNF-α, o cualquier antagonista de estos. En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, pueden administrarse con cualquier interleuquina o con cualquier antagonista de interleuquinas, lo que abarca, sin limitaciones, la IL-1alfa, la IL-1beta, la IL-2, la IL-3, la IL-4, la IL-5, la IL-6, la IL-7, la IL-8, la IL-9, la IL-10, la IL-11, la IL-12, la IL-13, la IL-14, la IL-15, la IL-16, la IL-17, la IL-18, la IL-19, la IL-20 y la IL-21, o cualquier antagonista de estas.

[0228] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con una o más quimioquinas o antagonistas de quimioquinas. En formas de realización específicas, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con una quimioquina del tipo α(CxC), que se selecciona del grupo que consiste en la proteína inducible por el interferón gamma 10 (γIP-10), la interleuquina 8 (IL-8), el factor de las plaquetas 4 (PF4), la proteína activadora de los neutrófilos (NAP-2), GRO-α, GRO-β, GRO-γ, el péptido activador de los neutrófilos (ENA-78), la proteína quimioatractante de los granulocitos 2 (GCP-2) y el factor derivado de las células del estroma 1 (SDF-1, que también se conoce como el factor estimulador preliminar de las células B (PBSF)); con una quimioquina del tipo β(CC), que se selecciona del grupo que consiste en RANTES (el factor que se expresa y se secreta en las células T normales y que está regulado por la activación), la

proteína inflamatoria de los macrófagos 1 alfa (MIP-1α), la proteína inflamatoria de los macrófagos 1 beta (MIP-1β), la proteína quimiotáctica de los monocitos 1 (MCP-1), la proteína quimiotáctica de los monocitos 2 (MCP-2), la proteína quimiotáctica de los monocitos 3 (MCP-3), la proteína quimiotáctica de los monocitos 4 (MCP-4) la proteína inflamatoria de los macrófagos 1 gamma (MIP-1γ), la proteína inflamatoria de los macrófagos 3 alfa (MIP-3α), la proteína inflamatoria de los macrófagos 3 beta (MIP-3β), la proteína inflamatoria de los macrófagos 4 (MIP-4/DC-CK-1/PARC), la eotaxina, Exodus e I-309; y/o con una quimioquina del tipo γ(C), tal como la linfotactina; o con cualquier antagonista de las anteriores.

[0229] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran con la quimioquina beta 8, con la quimioquina beta 1 y/o con la proteína inflamatoria de los macrófagos 4, o con cualquier antagonista de ellas. En una forma de realización preferida, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran con la quimioquina beta 8 o con un antagonista de esta.

[0230] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con un antagonista de la IL-4. Los antagonistas de la IL-4 que pueden administrarse con los anticuerpos y las composiciones de anticuerpos de la invención incluyen, sin limitaciones, los polipéptidos que son receptores solubles de IL-4, las formas multiméricas de los polipéptidos que son receptores solubles

de IL-4; los anticuerpos contra los receptores de IL-4, que se unen a los receptores de IL-4 sin transducir la señal biológica que es provocada por los receptores de IL-4, los anticuerpos anti-IL4, que bloquean la unión de la IL-4 a uno o más receptores de IL-4, y las muteínas de la IL-4, que se unen a los receptores de IL-4 pero no transducen la señal biológica provocada por IL-4. Preferiblemente, los anticuerpos anti-IL4 que se emplean de acuerdo con este método son anticuerpos monoclonales, aunque también pueden emplearse porciones de unión al antígeno de estos.

[0231] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con miembros de la familia del TNF, o con antagonistas de estos. En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con agentes que incluyen, sin limitaciones, las formas solubles del TNF-α, la linfotoxina-alfa (LT-alfa, que también se conoce como TNF-beta), la LT-beta (que se halla en el complejo heterotrimérico LT-alfa2-beta), OPGL, FasL, CD27L, CD30L, CD40L, 4-1BBL, DcR3, OX40L, el TNF-gamma (Publicación Internacional n.º WO 96/14328), AIM-I (Publicación Internacional n.º WO 97/33899), la endoquina-alfa (Publicación Internacional n.º WO 98/07880), OPG, la neutroquina-alfa (Publicación Internacional n.º WO 98/18921), OX40, el factor de crecimiento de los nervios (NGF), las formas solubles de Fas, CD30, CD27, CD40 4-IBB, TR2 (Publicación Internacional n.º WO 96/34095), DR3 (Publicación Internacional n.º WO 97/33904), DR4 (Publicación Internacional n.º WO 98/32856), TR5

(Publicación Internacional n.º WO 98/30693), TR6 (Publicación Internacional n.º WO 98/30694), TR7 (Publicación Internacional n.º WO 98/41629), TRANK, TR9 (Publicación Internacional n.º WO 98/56892), TR10 (Publicación Internacional n.º WO 98/54202), 312C2 (Publicación Internacional n.º WO 98/06842), TR12, las formas solubles de CD154, CD70 y CD153, o bien con cualquier antagonista de estos.

[0232] Tal como se lo emplea en la presente, el término "cantidad eficaz para el uso terapéutico" hace referencia a una cantidad del agente terapéutico administrado que sirve para aliviar o prevenir en una medida determinada uno o más de los síntomas del trastorno que se desea tratar. En el contexto del tratamiento de una enfermedad, una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CCL20, o de una porción de unión al antígeno de este, es una cantidad que ayuda al sujeto tratado a alcanzar uno o más de los objetivos deseados.

[0233] En algunas formas de realización, con el propósito de minimizar la inmunogenicidad, se usa un anticuerpo humanizado, o una porción de este, un método terapéutico o una composición de acuerdo con la presente invención para tratar un paciente humano. En aquellos casos donde no es necesaria una administración repetitiva, también puede resultar apropiado administrarle un anticuerpo de ratón o quimérico de acuerdo con la invención, o una porción de este, a un paciente humano.

[0234] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, pueden usarse para tratar un individuo que ha sido tratado con antelación, por ejemplo, con inhibidores

de las citoquinas que estimulan el sistema inmune (por ejemplo, anticuerpos monoclonales anti-TNF-α), con agentes que eliminan las células inmunes (por ejemplo, anticuerpos monoclonales anti-CD20) y/o con bloqueadores de las moléculas de acceso (por ejemplo, Abatacept). En algunas formas de realización, los anticuerpos, o las porciones de estos, se usan para tratar un paciente que presenta una respuesta nula o disminuida a otros tratamientos.

[0235] El anticuerpo de acuerdo con la invención, o la porción de unión al antígeno de este, puede administrarse en una o múltiples dosis, en cualquier punto de tiempo que sea considerado apropiado por el proveedor de cuidado para la salud. La dosis puede determinarse con métodos conocidos en la técnica, y puede depender, por ejemplo, de la edad, la sensibilidad, la tolerancia y la salud general del individuo. Con los anticuerpos de acuerdo con la invención, o con las porciones de estos, puede emplearse cualquier método de administración aceptado en la técnica, lo que abarca, sin limitaciones, la administración parenteral (por ejemplo, la inyección intravenosa, intraarterial, intramuscular, intratecal, intraperitoneal o subcutánea), oral (por ejemplo, a través de la dieta), local, tópica, por inhalación (por ejemplo, por inhalación intrabronquial, intranasal u oral o a través de gotas intranasales) o rectal, dependiendo de la enfermedad o la afección que se desea tratar. En una forma de realización, el anticuerpo, o la porción de este, se administra por vía parenteral.

[0236] La formulación variará de acuerdo con la ruta de administración que se seleccione (por ejemplo, una solución, una emulsión). Una composición apropiada que comprende el anticuerpo que se desea administrar, o una porción de este,

puede prepararse en un vehículo o un transporte aceptable para aplicaciones fisiológicas. La composición puede comprender múltiples dosis o puede ser una sola dosis. En el contexto de las soluciones o las emulsiones, los vehículos apropiados incluyen, por ejemplo, las soluciones, las emulsiones o las suspensiones basadas en agua o en alcohol, que pueden incluir medios salinos y amortiguados. Los vehículos parenterales pueden incluir la solución de cloruro de sodio, la dextrosa de Ringer, la dextrosa con cloruro de sodio, la solución de Ringer con lactosa o los aceites fijos. Los vehículos intravenosos pueden incluir diversos aditivos, conservantes, fluidos, nutrientes o electrolitos (véase en general *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17ª edición, Mack Publishing Co., PA, 1985). En el contexto de la inhalación, el compuesto puede disolverse y cargarse en un dispositivo apropiado para la administración (por ejemplo, un atomizador, un nebulizador o un dispositivo a presión para administrar un aerosol).

[0237] Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proveer la respuesta óptima deseada. En determinadas formas de realización, puede administrarse un único bolo, pueden administrarse varias dosis divididas con el correr del tiempo o puede reducirse o incrementarse proporcionalmente la dosis sobre la base de las exigencias de la situación terapéutica. Resulta especialmente ventajoso formular las composiciones parenterales en formas de dosificación individuales para simplificar la administración y obtener una dosificación uniforme. Las formas de dosificación individuales, tal como se las emplea en la presente, hacen referencia a unidades físicamente discretas que son apropiadas como dosis individuales para los pacientes/sujetos que se desea tratar. Cada una de ellas contiene una

cantidad predeterminada del compuesto activo, que ha sido calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en combinación con el vehículo farmacéutico necesario. Las especificaciones de las formas de dosificación individuales de la invención generalmente están determinadas por los siguientes factores, y dependen de ellos: (a) las características únicas del agente terapéutico y el efecto terapéutico o profiláctico particular que se desea obtener; y (b) las limitaciones asociadas a la sensibilidad que presentan los individuos al compuesto activo, que son conocidas en la técnica.

[0238] Por consiguiente, sobre la base de la descripción que se provee en la presente, aquellos versados en la técnica han de apreciar que es posible ajustar la dosis y el régimen de dosificación con métodos bien conocidos. Vale decir, la dosis máxima tolerada, la cantidad eficaz y los requerimientos temporales para administrar cada agente, con el propósito de obtener un beneficio terapéutico detectable en un paciente particular, pueden ser determinados con facilidad. Como consecuencia, si bien en la presente se proveen ejemplos de dosis y regímenes de administración, estos ejemplos no han de ser interpretados de una manera limitativa para la práctica de la presente invención.

[0239] Vale destacar que los valores de las dosis pueden variar con el tipo y la severidad de la afección que se desea aliviar, y que las dosis pueden administrarse completas o divididas. También ha de comprenderse que, para un sujeto particular, es necesario ajustar el régimen de dosificación específico con el correr del tiempo, sobre la base de las necesidades del individuo y el juicio profesional de la persona que administra las composiciones o que supervisa su

administración, y que los rangos de dosificación que se detallan en la presente se proveen solamente a modo de ejemplo, sin el propósito de limitar el alcance o la práctica de la invención. Además, el régimen de dosificación donde se emplean las composiciones de esta invención puede basarse en diversos factores, que incluyen el tipo de enfermedad, la edad, el peso, el sexo y la condición médica del paciente, la severidad de la afección, la ruta de administración y el anticuerpo particular empleado. Por ende, el régimen de dosificación puede variar ampliamente, pero puede ser determinado sin dificultad usando métodos convencionales. Por ejemplo, las dosis pueden ajustarse sobre la base de parámetros farmacocinéticos o farmacodinámicos, que pueden incluir los efectos clínicos, tales como los efectos tóxicos y/o los valores que se determinan en el laboratorio. Por lo tanto, la presente invención abarca los incrementos de las dosis para los pacientes que puedan considerar necesarios aquellos versados en la técnica. Los métodos para determinar las dosis y los regímenes apropiados han de resultar conocida para aquellos versados en la técnica, especialmente al tener en cuenta el contenido de la presente.

[0240] En algunas formas de realización, en el contexto de la administración a un sujeto humano, la dosis mensual total de los anticuerpos o las porciones de anticuerpos de la invención se encuentra en el rango de entre 0,5 y 1200 mg por paciente, lo que evidentemente depende del modo de administración. En determinadas formas de realización, para una dosis intravenosa mensual son necesarios aproximadamente 1-1000 mg/paciente. La dosis mensual total puede administrarse en una o más ocasiones, y de acuerdo con el criterio del médico,

puede hallarse fuera del rango típico que se mencionó con anterioridad.

[0241] En determinadas formas de realización, un rango para una cantidad eficaz para el uso terapéutico o profiláctico de un anticuerpo o una porción de anticuerpo de la invención es de entre 1 y 1000 mg/kg/paciente/mes. En una forma de realización, el anticuerpo de acuerdo con la invención, o la porción de este, puede administrarse en una cantidad aproximada de entre 1 y 200 o entre 1 y 150 mg/paciente/mes. En determinadas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de este, se administra por inyección en una cantidad de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg/kg/paciente, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces por mes. En una forma de realización particular, el anticuerpo, o la porción de este, se administra por inyección en una cantidad de entre 1 y 5 mg/kg/paciente, 1 o 2 veces por mes.

[0242] Los anticuerpos de acuerdo con la invención, y las porciones de unión al antígeno de estos, también son útiles en una variedad de procesos, con aplicaciones en la investigación y en el diagnóstico. En algunas formas de realización, los anticuerpos y las porciones de estos se emplean para detectar, aislar y/o purificar CCL20 humano o variantes de este (para lo cual puede recurrirse, por ejemplo, a una purificación por afinidad o a otros métodos apropiados, tales como la citometría de flujo, por ejemplo, para las células en suspensión, que pueden ser linfocitos) y para estudiar la estructura (por ejemplo, la conformación) y la función de CCL20 humano. En el contexto de las aplicaciones *in vitro*, cuando la inmunogenicidad del anticuerpo no es un problema, además de los anticuerpos humanizados, pueden resultar útiles los anticuerpos de ratón y quiméricos de acuerdo con la invención, así como las

porciones de unión al antígeno de estos.

[0243] Los anticuerpos de acuerdo con la presente invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, pueden usarse en aplicaciones de diagnóstico (por ejemplo, *in vitro* o *ex vivo*). En algunas formas de realización, los anticuerpos humanizados de acuerdo con la presente invención, o las porciones de estos, se usan para detectar y/o medir el nivel de CCL20 humano en una muestra. En determinadas formas de realización, la muestra comprende, por ejemplo, células o tejidos donde se expresa CCL20 humano, y/o fluidos corporales, que pueden ser exudados inflamatorios, sangre, suero y/o fluido intestinal que comprende CCL20 humano. La muestra puede obtenerse de un individuo, y a partir de ella puede aislarse un anticuerpo como los que se describen en la presente, o una porción de este, que puede ser apropiado para usarlo en un método inmunológico para detectar y/o medir la expresión de CCL20 humano. Los métodos apropiados incluyen la citometría de flujo (por ejemplo, para las células en suspensión, tales como los linfocitos) y los ensayos inmunosorbentes ligados a enzimas (ELISA), por ejemplo, los ensayos con quimioluminiscencia, los radioinmunoensayos y los análisis inmunohistológicos.

[0244] En una forma de realización, un método para detectar CCL20 humano en una muestra comprende poner en contacto la muestra con un anticuerpo de acuerdo con la invención, o con porción de este, bajo condiciones apropiadas para que ocurra la unión específica entre el anticuerpo, o la porción de este, y CCL20 humano, y detectar los complejos que se forman con el anticuerpo y CCL20. En una forma de realización, los anticuerpos que se describen en la presente, o las

porciones de estos, pueden usarse para comparar la reactividad y/o la expresión de CCL20 humano en tejidos normales y en tejidos inflamados (por ejemplo, de un ser humano). Esta comparación puede llevarse a cabo, por ejemplo, por medios inmunohistológicos, y puede servir para detectar la relación entre la expresión incrementada de CCL20 humano (por ejemplo, en los tejidos afectados) y uno o más trastornos, los cuales pueden seleccionarse, sin limitaciones, entre la enfermedad de Graves, el vitíligo, el hipertiroidismo, la artritis reumática, la psoriasis, la dermatitis atópica, la dermatitis de contacto, la enfermedad de Crohn, la enfermedad intestinal inflamatoria, las afecciones malignas de las células B, el adenocarcinoma de mama, la hepatitis crónica, el glioblastoma, el carcinoma hepatocelular, las infecciones de papilomavirus humanos en el cuello uterino, las micosis fungoides, el adenocarcinoma pancreático, la enfermedad periodontal, el carcinoma papilar en la tiroides, la pustulosis en las palmas y en las plantas de los pies, las afecciones relacionadas con el exantema maculopapular, la epidermólisis bulbosa, la alopecia areata, la esclerosis múltiple, la polimiositis, la dermatomiositis, la enfermedad de Behcet, la pustulosis exantematosa generalizada aguda, los vasculítidos, la artritis idiopática juvenil, la sarcoidosis, el asma bronquial, la rinitis alérgica, el rechazo de aloinjertos renales, la enfermedad del injerto contra el huésped, el rechazo de aloinjertos hepáticos, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la fibrosis quística, la glomerulonefritis, las infecciones del virus sincicial respiratorio, el mieloma múltiple, la histiocitosis en las células de Langerhans u otras afecciones. Por lo tanto, con los anticuerpos de la presente invención pueden ponerse en práctica métodos inmunológicos para

determinar la presencia de CCL20 humano en tejidos normales o inflamados, con lo cual puede analizarse la presencia de la enfermedad, el progreso de la enfermedad y/o la eficacia de una terapia con anticuerpos anti-CCL20 en el tratamiento de la enfermedad, que puede ser, por ejemplo, una enfermedad inflamatoria y/o inmune.

[0245] Los métodos y los procedimientos que se describen en la presente invención generalmente se ponen en práctica de maneras convencionales, conocidas en la técnica, tal como se describe en las diversas referencias generales y más específicas que se citan y se detallan en esta memoria descriptiva, a menos que se indique lo contrario. Véanse, por ejemplo, Sambrook J. & Russell D. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2000); Ausubel *et al.*, *Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley, John & Sons, Inc. (2002); Harlow y Lane *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1998); y Coligan *et al.*, *Short Protocols in Protein Science*, Wiley, John & Sons, Inc. (2003). Las reacciones con enzimas y las técnicas de purificación se ponen en práctica de acuerdo con las especificaciones del fabricante, de maneras conocidas en la técnica o según se describe en la presente. La nomenclatura que se usa en la presente, en el contexto de los procedimientos y las técnicas de laboratorio, de química analítica, de síntesis química orgánica y de química medicinal y farmacéutica es la nomenclatura convencional, por lo que ha de resultar conocida para aquellos versados en la técnica.

[0246] A menos que se los defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos que se emplean en la presente tienen los significados que comúnmente

les dan aquellos versados en la técnica a los que concierne esta invención. Más adelante se proveen ejemplos de métodos y materiales, aunque también pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los que se describen en la presente para poner en práctica o evaluar la presente invención. Todas las publicaciones y las otras referencias que se mencionan en la presente se incorporan a modo de referencia en su totalidad. En el caso en que haya un conflicto, esta memoria descriptiva, incluyendo las definiciones, ha de servir como control. Aunque en la presente se citan diversos documentos, las citas no constituyen una admisión de que cualquiera de ellos forme parte del conocimiento general en la técnica. En esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones, el término "comprender" y sus variaciones, tales como "comprende" o "que comprende", han de interpretarse como términos que denotan la inclusión de elementos individuales o en grupos, pero que no excluyen otros elementos individuales o en grupos. Los materiales, los métodos y los ejemplos se proveen solamente con fines ilustrativos, por lo que no han de ser interpretados de manera limitativa.

[0247] Los ejemplos a continuación se proveen con el objeto de facilitar la comprensión de la invención. Estos ejemplos se proveen solamente con fines ilustrativos, por lo que no han de ser interpretados como una limitación para el alcance de la invención.

Ejemplo 1. Participación de CCL20 en los trastornos autoinmunes e inflamatorios

[0248] Para obtener evidencias de la participación de CCL20 en las afecciones autoinmunes e inflamatorias, se estudiaron los efectos del knockout de CCR6, el receptor de CCL20, en un modelo de artritis reumática (RA) tipo II inducida con colágeno (CIA) en ratones. Se inmunizaron 10 ratones salvajes CCR6, 10 ratones que habían sido sometidos a un knockout $CCR6^{+/-}$ (heterocigotas) y 10 ratones que habían sido sometidos a un knockout $CCR6^{-/-}$ (homocigotas). Para ello, se los inyectó en la base de la cola con colágeno bovino tipo II (a razón de 150 µg/ratón) emulsionado en el coadyuvante completo de Freund (Chondrex, n.º 7001). Tres semanas más tarde, en la base de la cola se aplicó una inyección de refuerzo con la misma cantidad de la emulsión de colágeno bovino tipo II en un coadyuvante incompleto. Se calificó la severidad de los síntomas de la artritis en las patas de cada ratón, según se describe en Griswold *et al.*, *Arthritis & Rheumatism* 31(11):1406-1412 (1988). En resumen, se calificaron las lesiones en las articulaciones distales de las extremidades, es decir, en los codos o en las rodillas, con una escala entre 0 y 4, sobre la base de la cantidad de articulaciones comprometidas y el grado de eritema e hinchazón. Las calificaciones de la artritis se calcularon como la suma de las calificaciones de las cuatro patas de cada animal. Los animales salvajes CCR6 desarrollaron artritis, mientras que los animales $CCR6^{-/-}$ presentaron una resistencia notable a la enfermedad (figura 1). Vale destacar que los animales $CCR6^{+/-}$ también presentaron resistencia en un cierto nivel, lo que refleja que no es necesario anular por completo la función de CCL20 para contrarrestar el fenotipo artrítico.

[0249] Además, se llevó a cabo un análisis inmunohistoquímico en las patas

traseras de los ratones para determinar la presencia de células T positivas para CD3 o de macrófagos positivos para F4/80. El día 43, se sacrificaron los ratones y se fijaron sus patas traseras en formalina. Posteriormente, las patas se cortaron en secciones, las cuales se colocaron en portaobjetos. Después de descalcificar las muestras de las patas, se sometieron los portaobjetos a una coloración inmunohistoquímica con anticuerpos contra CD3 (n.º N1580, DAKO) y contra F4/80 (el clon CI:A3-1, AbD Serotec). La intensidad de la coloración fue calificada por dos observadores independientes, que analizaron las muestras con un instrumento Aperio (Aperio Technologies). A continuación, se proveen detalles de la calificación: 0 representa un fenotipo normal; 1 representa una coloración tenue en la pata o una coloración intensa en un dígito; 2 representa una coloración moderada en múltiples dígitos; 3 representa una coloración intensa en múltiples dígitos o una coloración moderada en la pata; 4 representa una coloración intensa en todos los dígitos y en la pata. La cantidad de células T (figura 2) y macrófagos (figura 3) infiltrados en las lesiones propias de la artritis inducida con colágeno fue notablemente menor en los ratones $CCR6^{+/-}$ y $CCR6^{-/-}$.

[0250] También se estudiaron los efectos del knockout de CCR6 en un modelo de dermatitis de contacto alérgica inducida con dinitrofluorobenceno (DNFB). Se sensibilizaron dos grupos de seis ratones cada uno (un grupo de ratones salvajes para CCR6 y un grupo de ratones con deficiencias en CCR6) aplicando 25 µl de una solución de DNFB al 0,4 % (en una mezcla 4:1 de acetona y aceite de oliva) con un pincel en el abdomen afeitado, durante dos días consecutivos (los días 0 y 1). El día 5, los ratones fueron atacados nuevamente: se les aplicaron 20 µl de una solución de DNFB al 0,4 % (en una mezcla 4:1 de acetona y aceite de oliva) en un lado de una oreja. Como indicador del edema, se determinó el grosor de la oreja

con un calibre antes del ataque con DNFB y 24 horas después del último ataque, el día 5. Los ratones con deficiencias en CCR6 presentaron orejas con un grosor prácticamente inalterado después del tratamiento con DNFB, lo que es indicativo de la resistencia a la hipersensibilidad de contacto inducida por el DNFB (figura 4).

[0251] Con estos datos, puede fundamentarse la participación de CCR6 y CCL20 en los trastornos autoinmunes e inflamatorios.

Ejemplo 2. Inhibición de la quimiotaxis inducida por CCL20 con el anticuerpo monoclonal de hámster anti-CCL20 de ratón 2F5-5

[0252] Para analizar en detalle la función de CCL20 como blanco terapéutico potencial, se llevaron a cabo experimentos con un anticuerpo de hámster anti-CCL20 de ratón (2F5-5). Primero, se caracterizó la capacidad del anticuerpo monoclonal 2F5-5 de unirse a CCL20 de ratón, humano y de macaco Rhesus. Se prepararon antígenos CCL20 solubles con una fosfatasa alcalina secretada (SEAP) de cada especie como se describe a continuación. Se amplificó el ADNc que codificaba CCL20 de humano, de mono cangrejero, de macaco Rhesus, de rata y de ratón y se lo subclonó en un vector pcDNA3.1 (+) dSalI con SEAP, que contenía el ADNc de SEAP y carecía del sitio para SalI (el vector pcDNA 3.1 (+) se adquirió en Invitrogen; el ADNc de SEAP provino de un vector pSEAP con un potenciador, de Clontech). Los vectores de expresión se transfectaron en células de la línea de células de riñón embrionario humano HEK293EBNA (HEK293E, Invitrogen). Las células HEK293E se inocularon con DMEM (Invitrogen) con la adición de 10 % de suero fetal bovino el día previo a la transfección. El día de la transfección, se reemplazó el medio de cultivo por un medio libre de suero OPTI-MEM II (Invitrogen). Los vectores de expresión se transfectaron usando TransIT LT1 (TAKARA Bio Inc., Shiga, Japón), de acuerdo con el protocolo del fabricante. Después de 3 días de incubación con 5 % de CO_2 y a 37°C, se cosecharon los

sobrenadantes del cultivo. La concentración de CCL20-SEAP en cada cultivo se determinó usando el conjunto de elementos de quimioluminiscencia para SEAP Great EscAPe 2.0 (Clontech).

[0253] Posteriormente, se llevaron a cabo análisis de resonancia de plasmón superficial (Biacore™) para medir la unión del anticuerpo monoclonal 2F5-5 a los antígenos CCL20-SEAP de ratón, humanos, de macaco Rhesus y de mono cangrejero. Se inmovilizó un anticuerpo monoclonal anti-SEAP (con una fosfatasa alcalina placentaria de ratón anti-humana, Thermo Scientific, cat. n.º MAI-19354, lote n.º KL12748M) en un chip sensor CM5 (GE Healthcare), usando un procedimiento de unión con NHS/EDC amina convencional. Se diluyó CCL20 de ratón marcado con SEAP (en una concentración de 100 nM en el sobrenadante, ID735, lote n.º 091130) hasta alcanzar una concentración de 5 nM, con TBS-P que contenía 0,005 % de Tween-20, y se lo capturó en el chip sensor CM5. En el chip sensor, se inyectaron diluciones del anticuerpo de hámster anti-CCL20 de ratón (2F5-5, lote n.º 060215, 2 mg/ml) en TBS-P, con concentraciones que variaron entre 0,2 nM y 80 nM y con una velocidad de flujo de 30 µl/minuto. Se monitoreó la asociación y la disociación del anticuerpo de hámster anti-CCL20 de ratón con CCL20 de ratón durante 4 minutos o durante 16 minutos, respectivamente. Entre las inyecciones, la superficie del chip se regeneró usando glicina 10 mM a un pH de 2,25. En los sensogramas, se emplearon dos referencias: a los valores que se obtuvieron usando los anticuerpos de hámster anti-CCL20 de ratón, se les sustrajeron los valores que se obtuvieron con una célula de referencia, sin CCL20 de ratón, y los valores que se obtuvieron cuando se inyectó TBS-P sobre CCL20 de ratón inmovilizado. Los sensogramas se analizaron usando un modelo de unión 1:1 de Langmuir, con el software BIAevaluation (GE Healthcare, versión 3.2). En este ensayo, el anticuerpo monoclonal 2F5-5 se unió a CCL20 de ratón con una afinidad de 32 pM, pero no se unió a CCL20 humano, de macaco Rhesus o de

mono cangrejero (tabla 1).

Tabla 1. Afinidad de unión del anticuerpo monoclonal 2F5-5 por los ortólogos de CCL20

Ortólogo de CCL20	k_a (x 10^5 M^{-1}segundo^{-1})	k_d (x 10^{-5} segundo^{-1})	K_D (x 10^{-11} M)
De ratón	9,63	0,474	0,492
Humano	No detectable	No detectable	No detectable
De macaco Rhesus	No detectable	No detectable	No detectable
De mono cangrejero	No detectable	No detectable	No detectable

[0254] Para evaluar el efecto del anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre la función de CCL20, se evaluó su actividad de neutralización sobre CCL20 de ratón usando un ensayo de quimiotaxis *in vitro*. Se colocaron células B300.19 que habían sido transducidas con CCR6 y CCL20 de ratón recombinante (1 nM) en placas de cultivo con cavidades transparentes. Cuatro horas más tarde, se contaron las células que habían migrado a la recámara inferior con un procedimiento de calificación de las células activadas con fluorescencia (FACS). El anticuerpo monoclonal 2F5-5 inhibió por completo la quimiotaxis en una concentración de 1 µg/ml, con un valor estimado de la IC_{50} de 0,04 µg/ml (0,27 nM; figura 5). En contraste, un anticuerpo de hámster control (10 µg/ml) no inhibió la quimiotaxis (100 % con relación al control; datos no presentados).

Ejemplo 3. Humanización de anticuerpos monoclonales de ratón anti-CCL20

[0255] Para obtener anticuerpos monoclonales contra CCL20 humano, se generó un panel de anticuerpos anti-CCL20 humano de ratón. Se inyectó CCL20 humano

recombinante (R&D, n.º 360-MP-025/CF, a razón de 17,5 µg/cabeza) emulsionado con el coadyuvante completo de Freund (Mitsubishi-Kagaku Yatron, RM606-1) por vía subcutánea en las plantas de las patas de los ratones. Se administraron dos inyecciones consecutivas cada tres días. Tres días después de la inmunización final, se sacrificaron los animales y se fusionaron células de los nodos linfáticos inguinales con células de mieloma P3U1, con una proporción de entre 2:1 y 10:1, en presencia de polietilenglicol al 50 %. Luego se cultivaron las células en placas de plástico de 96 cavidades.

[0256] Se empleó un ELISA en sándwich para realizar el análisis primario. Se recubrió una placa de 96 cavidades con un anticuerpo policlonal anti-IgG humana (Jackson, n.º 709-005-149, con una concentración de 2 µg/ml en PBS (-)). Después de incubar durante la noche a 4ºC, se bloquearon las cavidades con Block-Ace 1x (Dainippon Sumitomo Pharma, UK-B80), durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego se lavaron las cavidades con Tween 20/PBS (-) al 0,02 % y se agregó una proteína quimérica con CCL20 humano y la región Fc de la IgG humana, en una concentración de 1 nM en Tween 20/PBS (-) al 0,02 %, a las cavidades (a razón de 50 µl/cavidad). Después de incubar durante una hora a temperatura ambiente, se realizaron tres lavados adicionales como se describió con anterioridad. Se diluyeron los sobrenadantes de los cultivos de cada hibridoma al medio con FBS al 20 %, se agregaron 200 µg/ml de IgG humana (Mitsubishi Welpharma) en Tween 20/PBS (-) al 0,02 % a las cavidades y se incubó durante una hora a temperatura ambiente. Una vez realizados tres lavados adicionales, se incubaron las cavidades con un anticuerpo anti-IgG de ratón conjugado con peroxidasa de rábano picante (Jackson, n.º 715-035-150, en una dilución al 5000º con Tween 20/PBS (-) al 0,02 %) durante una hora a temperatura ambiente. Se lavaron las cavidades en tres ocasiones y se incubó en una solución de TMBZ (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) durante 15-30 minutos. Se agregó un volumen

idéntico de H_2SO_4 2 M para detener la reacción y se leyó la densidad óptica a 450 nm con un dispositivo ARVO (PerkinElmer). Con el ELISA en sándwich, fue posible identificar 24 cavidades positivas.

[0257] Después, se llevó a cabo un ensayo de quimiotaxis como análisis secundario. El ensayo de quimiotaxis se realizó en placas de cultivo con cavidades transparentes (que eran placas MultiScreen con poros 5 µm, de Millipore, n.º MAMIC 5S10). Primero, se preincubaron 50 µl/cavidad de CCL20 humano recombinante, en una concentración de 300 ng/ml (R&D, n.º 360-MP-025/CF) en el amortiguador de quimiotaxis (que comprendía 0,5 % de BSA, 0,5 % de FBS, HEPES 20 mM, pH 7,4, y 2-mercaptoetanol 50 µM en RPMI1640 (Invitrogen)), con 100 µl/cavidad de los sobrenadantes del cultivo de los hibridomas, a temperatura ambiente durante 30 minutos (hasta alcanzar una concentración final de CCL20 de 100 ng/ml), en las cavidades inferiores de las placas. Después de 30 minutos, se aplicaron células B300.19 que habían sido transfectadas con CCR6 humano (SEQ ID N.º 104; 2 x 10^5 células/75 µl) sobre las cavidades superiores y se incubó en una incubadora con 5 % de CO_2, a 37ºC durante 4 horas. Después de la incubación, se tomaron 150 µl las cavidades inferiores y se los fijó con 50 µl de PFA/PBS (-) al 4 %. Se colocaron muestras de 30 µl de cada cavidad en un analizador de células FACSCantoII (BD Biosciences) para contar las células que habían migrado. Se determinó la presencia de actividad de neutralización en cuatro cavidades.

[0258] Luego se usó una dilución limitativa convencional para obtener clones de hibridomas de las cuatro cavidades positivas. Con el ensayo de quimiotaxis *in vitro*, se confirmó la presencia de actividad de neutralización en el sobrenadante de cada clon. Tres de los anticuerpos monoclonales de ratón anti-CCL20 humano que fueron producidos por estos clones (los anticuerpos 36F7C10 (tabla 2),

42G5B10 (tabla 3) y 40-1C10B9 (tabla 4)) presentaron actividad de neutralización contra CCL20 humano.

Tabla 2. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de 36F7C10

Descripción	Secuencia
Secuencia señal de la cadena pesada (aminoácidos; SEQ ID N.º 33)	MRWSCIILFLVATATGVNS
Secuencia señal de la cadena liviana (aminoácidos; SEQ ID N.º 34)	MGVPTQLLLLWLTVVVVRC
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 39)	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFT NYWMHWVKQRPGQGLEWIGVIDPSDSYTTY NQKFKGKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDS AVYYCTRGNYGVDYAMDYWGQGTSVTVSS
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 40)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCGASENIYGA LNWYQRKQGKSPQLLIYGATNLADGMSSRF SGSGSGRQYSLKISSLHPDDVATYYCQNVLIT PYTFGGGTKLEIK
Secuencia señal de la cadena pesada (nucleótidos; SEQ ID N.º 45)	ATGAGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTG GTAGCAACAGCTACAGGTGTCAACTCC
Secuencia señal de la cadena liviana (nucleótidos; SEQ ID N.º 46)	ATGGGTGTACCCACTCAGCTCCTGTTGCTG TGGCTTACAGTCGTAGTTGTCAGATGT
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 51)	CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGA GCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGA TGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCA CCAACTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAG AGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATCGG AGTGATTGATCCTTCTGATAGTTATACTACC TACAATCAAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACA TTGACTGTAGACACATCCTCCAGCACAGCC TACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAG GACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGAGGT AACTACGGAGTAGACTATGCTATGGACTAC TGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTC CTCG
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 52)	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCTTCA CTGTCTGCATCTGTGGGAGAAACTGTCACC ATCACATGTGGAGCAAGTGAGAATATTTAC GGTGCTTTAAATTGGTATCAGCGGAAACAG GGAAAATCTCCTCAGCTCCTGATCTATGGT GCAACCAACTTGGCAGATGGCATGTCATCG AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGTAGACA GTATTCTCTCAAGATCAGTAGCCTGCATCC TGACGATGTTGCAACGTATTACTGTCAAAAT GTGTTAATTACTCCGTACACGTTCGGAGGG GGGACCAAGCTGGAAATAAAA

Tabla 3. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de 42G5B10

Descripción	Secuencia
Secuencia señal de la cadena pesada (aminoácidos; SEQ ID N.º 37)	MRWSCIILFLVATATGVNS
Secuencia señal de la cadena liviana (aminoácidos; SEQ ID N.º 38)	MGVPTQLLLLWLTVVVVRC
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 43)	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFT SYWMHWVKQRPGQGLEWIGLIDPSDKYTNY NQKFKGKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDS AVYYCTRGNYGVDYGMDYWGQGTSVTVSS
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 44)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCGASENIYGA LNWYQRKQGKSPQLLIYGATNLADGMSSRF SGSGSGRQYSLKISSLHPDDVATYYCQNVLS TPYTFGGGTKLEIK
Secuencia señal de la cadena pesada (nucleótidos; SEQ ID N.º 49)	ATGAGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTG GTAGCAACAGCTACAGGTGTCAACTCC
Secuencia señal de la cadena liviana (nucleótidos; SEQ ID N.º 50)	ATGGGTGTACCCACTCAGCTCCTGTTGCTG TGGCTTACAGTCGTAGTTGTCAGATGT
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 55)	CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGA GCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGA TGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCA CCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAG AGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATCGG ACTGATTGATCCTTCTGATAAGTATACTAAC TACAATCAAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACA TTGACTGTAGACACATCCTCCAGCACAGCC TACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAG GACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGAGGT AACTACGGAGTAGACTATGGTATGGACTAC TGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTC CTCA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 56)	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCTTCA CTGTCTGCATCTGTGGGAGAAACTGTCACC ATCACATGTGGAGCAAGTGAGAATATTTAC GGTGCTTTAAATTGGTATCAGCGGAAACAG GGAAAATCTCCTCAGCTCCTGATCTATGGT GCAACCAACTTGGCAGATGGCATGTCATCG AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGTAGACA GTATTCTCTCAAGATCAGTAGCCTGCATCC TGACGATGTTGCAACGTATTACTGTCAAAAT GTGTTAAGTACTCCGTACACGTTCGGAGGG GGGACCAAGCTGGAAATAAAA

Tabla 4. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de 40-1C10B9

Descripción	Secuencia
Secuencia señal de la cadena pesada (aminoácidos; SEQ ID N.º 35)	MEWSWVFLFLLSVIAGVQS
Secuencia señal de la cadena liviana (aminoácidos; SEQ ID N.º 36)	MGVPTQLLLLWLTVVVVRC
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 41)	QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFT DYEMHWVKQTPVHGLEWIGAIDPETTSTAYN QKFKGKATLTADKSSSTAYMELRSLTSEDSA VYYCTKCYYGSADYAMDYWGQGTSVTVSS
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 42)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCGASENIYGA LNWYQRKQGKSPQLLIYGATNLADGMSSRF SGSGSGRQYSLKISSLHPDDVATYYCQNVLS TPWTFGGGTKLEIK
Secuencia señal de la cadena pesada (nucleótidos; SEQ ID N.º 47)	ATGGAATGGAGCTGGGTCTTTCTCTTCCTC CTGTCAGTAATTGCAGGTGTCCAATCC
Secuencia señal de la cadena liviana (nucleótidos; SEQ ID N.º 48)	ATGGGTGTACCCACTCAGCTCCTGTTGCTG TGGCTTACAGTCGTAGTTGTCAGATGT
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 53)	CAGGTTCAACTGCAGCAGTCTGGGGCTGA GCTGGTGAGGCCTGGGGCTTCAGTGACGC TGTCCTGCAAGGCTTCGGGCTACACATTTA CTGACTATGAAATGCACTGGGTGAAGCAGA CACCTGTGCATGGCCTGGAATGGATTGGA GCTATTGATCCTGAAACTACTAGTACTGCC TACAATCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACA CTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCC TACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTGAG GACTCTGCCGTCTATTACTGTACCAAATGTT ACTACGGTAGCGCGGACTATGCTATGGACT ACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCT CCTCA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 54)	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCTTCA CTGTCTGCATCTGTGGGAGAAACTGTCACC ATCACATGTGGAGCAAGTGAGAATATTTAC GGTGCTTTAAATTGGTATCAGCGGAAACAG GGAAAATCTCCTCAGCTCCTGATCTATGGT GCAACCAACTTGGCAGATGGCATGTCATCG AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGTAGACA GTATTCTCTCAAGATCAGTAGCCTGCATCC TGACGATGTTGCAACGTATTACTGTCAAAAT GTGTTAAGTACTCCGTGGACGTTCGGTGGA GGCACCAAGCTGGAAATCAAA

[0259] Posteriormente, se emplearon los anticuerpos de ratón 36F7C10, 42G5B10 y 40-1C10B9 para producir las cadenas pesadas y livianas de los anticuerpos humanizados. El método de humanización comprendió injertar las regiones de determinación de la complementariedad (CDR) de ratón, que se identificaron

sobre la base de las definiciones de Kabat y/o de Chotia, de acuerdo con la numeración de Kabat, en las secuencias de las cadenas pesadas y las cadenas livianas de la línea germinal humana cuyos marcos de trabajo presentaban las mejores coincidencias con las secuencias originales de ratón de las que se habían obtenido las CDR (figura 6; en negrita se representan los residuos que difieren entre el anticuerpo de ratón y la secuencia de la línea germinal humana; en negrita y subrayadas se representan las CDR de ratón injertadas; en cursiva y subrayados se representan los residuos del marco de trabajo que fueron sustituidos por los residuos correspondientes de los anticuerpos de ratón; y subrayados, en cursiva y en negrita se representan los residuos de las CDR que fueron sustituidos por los residuos correspondientes de la línea germinal humana). Las coincidencias en el marco de trabajo se identificaron usando la base de datos IgBlast, de acuerdo con los métodos que se describen en Altschul *et al.*, Nucl. Acids Res, 25: 3389-3402 (1997). Con el objeto de obtener versiones alternativas de las cadenas humanizadas, se emplearon dos métodos. Por un lado, se usaron técnicas de modelado tridimensional para predecir los residuos en el marco de trabajo murino que eran críticos para la interacción con la CDR. Por otro lado, se realizaron alineamientos con las secuencias para identificar los residuos murinos que se encontraban en posiciones inmediatamente adyacentes a las secuencias de las CDR canónicas.

[0260] Las secuencias humanizadas se introdujeron en vectores de expresión y se transfectaron en líneas de células de mamíferos (por ejemplo, en células HEK293E (Invitrogen)) para producir anticuerpos. Los anticuerpos que se obtuvieron con este proceso se caracterizaron con ensayos funcionales y fisicoquímicos.

Ejemplo 4. Ensayos de quimiotaxis *in vitro* para demostrar la actividad de

neutralización de los anticuerpos anti-CCL20 humano humanizados

[0261] Se identificaron anticuerpos humanizados que podían neutralizar activamente el ligando CCL20 humano a través de ensayos de quimiotaxis *in vitro* donde se usaron células B300.19 transducidas con CCR6. Una vez determinados los valores de la IC_{50}, de la IC_{90} y de la IC_{95} (Figuras 7A-C), se consideró que los anticuerpos que presentaban valores reducidos en la tabla de la IC_{95} tenían una actividad de neutralización significativa (figura 7C). Se evaluaron 41 combinaciones de las 14 cadenas pesadas humanizadas y las 26 cadenas livianas humanizadas que se produjeron. Ocho de estas combinaciones presentaron una actividad de neutralización de la quimiotaxis significativa. Estos ocho anticuerpos humanizados se detallan a continuación.

- 36LK3/36HKK3
- 36LK3/42HKK1
- 36LK3/42HKK2
- 36LK3/42HKK3
- 36LK3/36HC2
- 36LK3/36HC3
- 36LC3/36HKK3
- 36LC3/36HC2

[0262] Las secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de las cadenas pesadas humanizadas HC2, HC3, 36HKK3, 42HKK1, 42HKK2 y 42HKK3 y de las cadenas livianas humanizadas LC3 y LK3 se detallan en las tablas 5-12. Las secuencias de aminoácidos codificadas por los genes de la línea germinal humana que se

emplearon en estas cadenas pesadas y livianas se detallan en la tabla 13.

Tabla 5. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena pesada humanizada ("HC2") del anticuerpo anti-CCL20 humano 36HC2

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada con la secuencia señal (SEQ ID N.º 1)	MGWSCIILFLVATATGVHS**QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAP GQGLEWMGVIDPSDSYTTYAQKFQGRVTMT VDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGNY GVDYAMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada sin la secuencia señal (SEQ ID N.º 108)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYWMHWVRQAPGQGLEWMGVIDPSDSYTT YAQKFQGRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARGNYGVDYAMDYWGQGTLVTV SS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 9)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYWMHWVRQAPGQGLEWMGVIDPSDSYTT YAQKFQGRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARGNYGVDYAMDYWGQGTLVTV SS**
Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada con la secuencia señal (SEQ	ATGGGCTGGTCCTGCATCATTCTGTTCCTG GTGGCCACTGCTACCGGAGTGCACAGC**CA GGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAG**

ID N.º 17)	**GTGAAGAAACCCGGTGCAAGTGTGAAGGT** **GTCATGTAAAGCATCCGGCTATACATTCAC** **TAACTACTGGATGCATTGGGTGAGGCAGG** **CTCCAGGACAGGGACTGGAATGGATGGG** **CGTGATCGACCCTTCAGATTCCTACACCA** **CATATGCCCAGAAGTTTCAGGGCAGGGTG** **ACCATGACAGTGGACACTAGCACCTCTAC** **AGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGAA** **GTGAAGATACAGCAGTGTACTATTGCGCC** **CGCGGCAATTACGGAGTGGACTATGCCAT** **GGATTACTGGGGGCAGGGTACTCTGGTGA** **CCGTGTCTAGT**GCTTCTACCAAGGGCCCAT CGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGA GCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACA AAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCAC CTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTC CTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTA CCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA CACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAG CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGGAAAT GA
Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada con la secuencia señal (SEQ	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGA** **GGTGAAGAAACCCGGTGCAAGTGTGAAG** **GTGTCATGTAAAGCATCCGGCTATACATTC**

ID N.º 109)	**ACTAACTACTGGATGCATTGGGTGAGGCA** **GGCTCCAGGACAGGGACTGGAATGGATG** **GGCGTGATCGACCCTTCAGATTCCTACAC** **CACATATGCCCAGAAGTTTCAGGGCAGGG** **TGACCATGACAGTGGACACTAGCACCTCT** **ACAGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAG** **AAGTGAAGATACAGCAGTGTACTATTGCG** **CCCGCGGCAATTACGGAGTGGACTATGCC** **ATGGATTACTGGGGGCAGGGTACTCTGGT** **GACCGTGTCTAGT**GCTTCTACCAAGGGCC CATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCA AGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTG GGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCG CCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG GCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG CAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAA CGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGA CAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCT TCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCC TCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGT ACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTG CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTA CAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCC AGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGC CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCT GGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG GAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGT GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTA TAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT GGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGG GAAATGA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 25)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGA** **GGTGAAGAAACCCGGTGCAAGTGTGAAG** **GTGTCATGTAAAGCATCCGGCTATACATTC** **ACTAACTACTGGATGCATTGGGTGAGGCA** **GGCTCCAGGACAGGGACTGGAATGGATG**

	GGCGTGATCGACCCTTCAGATTCCTACAC CACATATGCCCAGAAGTTTCAGGGCAGGG TGACCATGACAGTGGACACTAGCACCTCT ACAGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAG AAGTGAAGATACAGCAGTGTACTATTGCG CCCGCGGCAATTACGGAGTGGACTATGCC ATGGATTACTGGGGGCAGGGTACTCTGGT GACCGTGTCTAGT

Tabla 6. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena pesada humanizada ("HC3") del anticuerpo anti-CCL20 humano 36HC3

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 2)	MGWSCIILFLVATATGVHS**QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVKQAP GQGLEWIGVIDPSDSYTTYNQKFKGKATMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTRGNY GVDYAMDYWGQGTSVTVSS**ASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 10)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYWMHWVKQAPGQGLEWIGVIDPSDSYTTY NQKFKGKATMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTRGNYGVDYAMDYWGQGTSVTVS S**
Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 18)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATTCTGTTCCTG GTGGCAACTGCCACCGGAGTGCACAGC**CA GGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAG GTGAAGAAACCCGGTGCAAGTGTGAAAGT GTCATGCAAGGCATCCGGCTATACATTCA CTAACTACTGGATGCATTGGGTGAAGCAG GCACCAGGACAGGGACTGGAATGGATCG GCGTGATCGACCCTTCAGATTCCTACACC ACATATAATCAGAAGTTTAAAGGCAAGGC TACCATGACAAGGGACACTAGCACCTCTA CAGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGG TCCGAAGATACAGCCGTGTACTATTGCAC**

	TCGGGGCAACTACGGAGTGGACTATGCTA **TGGATTACTGGGGGCAGGGTACTAGTGTG** **ACCGTGTCTAGT**GCATCTACCAAGGGCCC ATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAA GAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGG GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAAC CGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCC CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGC TGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCT CAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCA GCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGA CAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCT TCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCC TCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGT ACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTG CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTA CAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCC AGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGC CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCT GGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG GAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGT GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTA TAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT GGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGG GAAATGA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 26)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGA** **GGTGAAGAAACCCGGTGCAAGTGTGAAA** **GTGTCATGCAAGGCATCCGGCTATACATT** **CACTAACTACTGGATGCATTGGGTGAAGC** **AGGCACCAGGACAGGGACTGGAATGGAT** **CGGCGTGATCGACCCTTCAGATTCCTACA** **CCACATATAATCAGAAGTTTAAAGGCAAG** **GCTACCATGACAAGGGACACTAGCACCTC** **TACAGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGA** **GGTCCGAAGATACAGCCGTGTACTATTGC** **ACTCGGGGCAACTACGGAGTGGACTATGC** **TATGGATTACTGGGGGCAGGGTACTAGTG**

	TGACCGTGTCTAGT

Tabla 7. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena pesada humanizada del anticuerpo anti-CCL20 humano 36HKK3

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 3)	MDWTWRILFLVAAATGAHS**QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQA PGQGLEWMGVIDPSDSYTTYNQKFKGKATL TVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRGNY GVDYAMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 11)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYWMHWVRQAPGQGLEWMGVIDPSDSYTT YNQKFKGKATLTVDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRGNYGVDYAMDYWGQGTLVTVS S**
Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 19)	ATGGACTGGACATGGAGAATCCTGTTCCTG GTGGCCGCTGCAACCGGAGCACACAGC**CA GGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAG GTGAAGAAACCCGGTGCTAGTGTGAAAGT GTCATGCAAGGCCTCCGGGTATACTTTCA CCAACTACTGGATGCATTGGGTGAGGCAG GCTCCAGGACAGGGACTGGAATGGATGG GCGTGATTGACCCTTCAGATTCCTACACCA CATATAATCAGAAGTTTAAAGGAAAGGCA ACACTGACTGTGGACACCAGCACATCTAC TGCCTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGT CCGAAGATACTGCCGTGTACTATTGTACC CGGGGCAACTACGGAGTGGACTATGCAAT GGATTACTGGGGGCAGGGTACCCTGGTGA CAGTGTCTAGT**GCTAGCACCAAGGGCCCA TCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC

	TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACA AAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCAC CTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTC CTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTA CCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA CACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAG CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAT GA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 27)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGA GGTGAAGAAACCCGGTGCTAGTGTGAAAG TGTCATGCAAGGCCTCCGGGTATACTTTCA CCAACTACTGGATGCATTGGGTGAGGCAG GCTCCAGGACAGGGACTGGAATGGATGG GCGTGATTGACCCTTCAGATTCCTACACCA CATATAATCAGAAGTTTAAAGGAAAGGCA ACACTGACTGTGGACACCAGCACATCTAC TGCCTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGT CCGAAGATACTGCCGTGTACTATTGTACC CGGGGCAACTACGGAGTGGACTATGCAAT GGATTACTGGGGGCAGGGTACCCTGGTGA CAGTGTCTAGT**

Tabla 8. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena pesada humanizada del anticuerpo anti-CCL20 humano 42HKK1

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se

	representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 4)	MDWTWRILFLVAAATGAHS**QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQA PGQGLEWMGLIDPSDKYTNYNQKFKGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGNY GVDYGMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 12)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYWMHWVRQAPGQGLEWMGLIDPSDKYTN YNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARGNYGVDYGMDYWGQGTLVTV SS**
Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 20)	ATGGACTGGACCTGGCGAATCCTGTTCCTG GTGGCCGCTGCAACAGGAGCACACTCA**CA GGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGGGCAGAG GTGAAGAAACCCGGTGCCAGCGTGAAGG TGTCTTGCAAAGCTAGTGGCTATACCTTCA CAAGCTACTGGATGCATTGGGTGCGGCAG GCACCAGGACAGGGACTGGAATGGATGG GCCTGATTGACCCTTCTGATAAGTACACTA ACTACAACCAGAAGTTTAAAGGAAGGGTG ACTATGACCCGGGACACATCAACTTCCAC CGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGAT CCGAAGATACCGCCGTGTACTATTGTGCT CGCGGCAACTACGGAGTGGACTATGGCAT GGATTACTGGGGGCAGGGTACACTGGTGA CCGTGTCCAGT**GCTAGCACCAAGGGCCCA TCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACA AAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCAC

	CTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTC CTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTA CCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA CACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAG CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAT GA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 28)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGGGCAG AGGTGAAGAAACCCGGTGCCAGCGTGAA GGTGTCTTGCAAAGCTAGTGGCTATACCTT CACAAGCTACTGGATGCATTGGGTGCGGC AGGCACCAGGACAGGGACTGGAATGGAT GGGCCTGATTGACCCTTCTGATAAGTACA CTAACTACAACCAGAAGTTTAAAGGAAGG GTGACTATGACCCGGGACACATCAACTTC CACCGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGA GATCCGAAGATACCGCCGTGTACTATTGT GCTCGCGGCAACTACGGAGTGGACTATGG CATGGATTACTGGGGGCAGGGTACACTGG TGACCGTGTCCAGT**

Tabla 9. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena pesada humanizada del anticuerpo anti-CCL20 humano 42HKK2

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 5)	MDWTWRILFLVAAATGAHS**QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQA PGQGLEWMGLIDPSDKYTNYNQKFKGRVTL TVDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTRGNY GVDYGMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPL

	APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 13)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYWMHWVRQAPGQGLEWMGLIDPSDKYTN YNQKFKGRVTLTVDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTRGNYGVDYGMDYWGQGTLVTVS S**
Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 21)	ATGGACTGGACTTGGAGGATCCTGTTCCTG GTGGCCGCTGCAACCGGAGCTCACTCA**CA GGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCAGAG GTGAAGAAACCCGGTGCCTCCGTGAAGGT GTCTTGCAAAGCAAGTGGCTATACCTTCA CAAGCTACTGGATGCATTGGGTGAGACAG GCACCAGGACAGGGACTGGAATGGATGG GCCTGATTGACCCTTCTGATAAGTACACCA ACTACAACCAGAAGTTTAAAGGACGCGTG ACTCTGACCGTGGACACATCAACTTCCAC CGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGT CCGAAGATACCGCAGTGTACTATTGTACA CGGGGCAACTACGGAGTGGACTATGGCAT GGATTACTGGGGGCAGGGTACACTGGTGA CCGTGTCCAGT**GCTAGCACCAAGGGCCCA TCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACA AAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCAC CTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTC CTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTA

	CCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA CACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAG CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAT GA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 29)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCAG AGGTGAAGAAACCCGGTGCCTCCGTGAAG GTGTCTTGCAAAGCAAGTGGCTATACCTTC ACAAGCTACTGGATGCATTGGGTGAGACA GGCACCAGGACAGGGACTGGAATGGATG GGCCTGATTGACCCTTCTGATAAGTACAC CAACTACAACCAGAAGTTTAAAGGACGCG TGACTCTGACCGTGGACACATCAACTTCC ACCGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAG GTCCGAAGATACCGCAGTGTACTATTGTA CACGGGGCAACTACGGAGTGGACTATGG CATGGATTACTGGGGGCAGGGTACACTGG TGACCGTGTCCAGT**

Tabla 10. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena pesada humanizada del anticuerpo anti-CCL20 humano 42HKK3

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 6)	MDWTWRILFLVAAATGAHS**QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQA PGQGLEWMGLIDPSDKYTNYNQKFKGKATL TVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRGNY GVDYGMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE

	PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 14)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYWMHWVRQAPGQGLEWMGLIDPSDKYTN YNQKFKGKATLTVDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRGNYGVDYGMDYWGQGTLVTVS S**
Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 22)	ATGGACTGGACTTGGAGAATCCTGTTCCTG GTGGCCGCTGCAACCGGAGCTCACTCA**CA GGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCAGAG GTGAAGAAACCCGGTGCCTCCGTGAAAGT GTCTTGCAAGGCTAGTGGCTATACCTTCAC AAGCTACTGGATGCATTGGGTGAGGCAGG CACCAGGACAGGGACTGGAATGGATGGG CCTGATTGACCCTTCTGATAAGTACACCAA CTACAACCAGAAGTTTAAAGGAAAGGCAA CTCTGACCGTGGACACATCAACTTCCACC GCCTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGTC CGAAGATACCGCCGTGTACTATTGTACAC GGGGCAACTACGGAGTGGACTATGGCATG GATTACTGGGGGCAGGGTACACTGGTGAC CGTGTCCAGT**GCTAGCACCAAGGGCCCAT CGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGA GCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACA AAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCAC CTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTC CTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTA CCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA CACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG

	GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAG CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAT GA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 30)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCAG AGGTGAAGAAACCCGGTGCCTCCGTGAAA GTGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTATACCTTC ACAAGCTACTGGATGCATTGGGTGAGGCA GGCACCAGGACAGGGACTGGAATGGATG GGCCTGATTGACCCTTCTGATAAGTACAC CAACTACAACCAGAAGTTTAAAGGAAAGG CAACTCTGACCGTGGACACATCAACTTCC ACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAG GTCCGAAGATACCGCCGTGTACTATTGTA CACGGGGCAACTACGGAGTGGACTATGG CATGGATTACTGGGGGCAGGGTACACTGG TGACCGTGTCCAGT**

Tabla 11. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena liviana humanizada del anticuerpo anti-CCL20 humano LC3

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena liviana con la secuencia señal (SEQ ID N.º 7)	MGWSCIILFLVATATGVHS**DIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASENIYGALNWYQQKPGKA PKLLIYGATNLADGVPSRFSGSGSGRQYSLT ISSLQPEDFATYYCQNVLITPYTFGGGTKLEI K**RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
Secuencia de aminoácidos de la cadena liviana sin la secuencia señal (SEQ ID N.º 110)	**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYGA LNWYQQKPGKAPKLLIYGATNLADGVPSRF SGSGSGRQYSLTISSLQPEDFATYYCQNVLI TPYTFGGGTKLEIK**RTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID	**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYGA LNWYQQKPGKAPKLLIYGATNLADGVPSRF SGSGSGRQYSLTISSLQPEDFATYYCQNVLI TPYTFGGGTKLEIK**

N.º 15)	
Secuencia de nucleótidos de la cadena liviana con la secuencia señal (SEQ ID N.º 23)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATTCTGTTCCTG GTGGCAACCGCCACAGGAGTGCACAGC**GA** **CATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCAGCC** **TGAGTGCCTCAGTGGGCGATAGGGTGACT** **ATCACCTGTCGGGCCAGCGAGAACATCTA** **CGGCGCTCTGAATTGGTATCAGCAGAAGC** **CAGGAAAAGCTCCCAAGCTGCTGATCTAC** **GGGGCTACAAACCTGGCAGACGGTGTGC** **CCAGTCGATTCTCCGGTAGCGGCTCTGGA** **CGACAGTATTCACTGACTATCTCTAGTCTG** **CAGCCTGAAGATTTCGCCACTTACTATTGC** **CAGAATGTGCTGATTACTCCATATACCTTT** **GGCGGAGGGACAAAACTGGAGATCAAG**A GAACTGTGGCCGCTCCCAGTGTGTTCATTT TTCCCCCTTCAGACGAACAGCTGAAATCAG GGACCGCTTCCGTGGTGTGTCTGCTGAAC AATTTCTACCCTCGCGAGGCAAAAGTGCAG TGGAAGGTGGATAACGCCCTGCAGAGTGG CAATTCACAGGAGTCCGTGACCGAACAGG ACAGCAAAGATTCTACATATAGTCTGTCATC CACCCTGACACTGAGCAAGGCTGATTACGA GAAGCACAAAGTGTATGCATGCGAAGTGAC TCATCAGGGGCTGAGCTCTCCCGTGACCA AGTCTTTTAACCGGGGTGAATGTTGA
Secuencia de nucleótidos de la cadena liviana sin la secuencia señal (SEQ ID N.º 111)	**GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCAG** **CCTGAGTGCCTCAGTGGGCGATAGGGTGA** **CTATCACCTGTCGGGCCAGCGAGAACATC** **TACGGCGCTCTGAATTGGTATCAGCAGAA** **GCCAGGAAAAGCTCCCAAGCTGCTGATCT** **ACGGGGCTACAAACCTGGCAGACGGTGT** **GCCCAGTCGATTCTCCGGTAGCGGCTCTG** **GACGACAGTATTCACTGACTATCTCTAGTC** **TGCAGCCTGAAGATTTCGCCACTTACTATT** **GCCAGAATGTGCTGATTACTCCATATACCT** **TTGGCGGAGGGACAAAACTGGAGATCAA** **G**AGAACTGTGGCCGCTCCCAGTGTGTTCAT TTTTCCCCCTTCAGACGAACAGCTGAAATC AGGGACCGCTTCCGTGGTGTGTCTGCTGA ACAATTTCTACCCTCGCGAGGCAAAAGTGC AGTGGAAGGTGGATAACGCCCTGCAGAGT GGCAATTCACAGGAGTCCGTGACCGAACA GGACAGCAAAGATTCTACATATAGTCTGTC ATCCACCCTGACACTGAGCAAGGCTGATTA CGAGAAGCACAAAGTGTATGCATGCGAAGT GACTCATCAGGGGCTGAGCTCTCCCGTGA CCAAGTCTTTTAACCGGGGTGAATGTTGA

Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 31)	**GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCAG CCTGAGTGCCTCAGTGGGCGATAGGGTGA CTATCACCTGTCGGGCCAGCGAGAACATC TACGGCGCTCTGAATTGGTATCAGCAGAA GCCAGGAAAAGCTCCCAAGCTGCTGATCT ACGGGGCTACAAACCTGGCAGACGGTGT GCCCAGTCGATTCTCCGGTAGCGGCTCTG GACGACAGTATTCACTGACTATCTCTAGTC TGCAGCCTGAAGATTTCGCCACTTACTATT GCCAGAATGTGCTGATTACTCCATATACCT TTGGCGGAGGGACAAAACTGGAGATCAA G**

Tabla 12. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena liviana humanizada del anticuerpo anti-CCL20 humano LK3

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena liviana con la secuencia señal (SEQ ID N.º 8)	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC**DIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCGASENIYGALNWYQRK PGKAPKLLIYGATNLADGVPSRFSGSGSGR DYTLTISSLQPEDFATYYCQNVLITPYTFGQG TKLEIK**RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Secuencia de aminoácidos de la cadena liviana sin la secuencia señal (SEQ ID N.º 112)	**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYG ALNWYQRKPGKAPKLLIYGATNLADGVPSR FSGSGSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCQNVLI TPYTFGQGTKLEIK**RTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 16)	**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYG ALNWYQRKPGKAPKLLIYGATNLADGVPSR FSGSGSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCQNVLI TPYTFGQGTKLEIK**
Secuencia de nucleótidos de la cadena liviana con la secuencia señal (SEQ ID N.º 24)	ATGGACATGAGGGTGCCTGCTCAGCTGCT GGGACTGCTGCTGCTGTGGCTGAGGGGAG CACGATGC**GACATCCAGATGACTCAGAGC CCATCCAGCCTGTCAGCCTCCGTGGGCGA CAGGGTGACCATCACATGTGGAGCATCCG AGAACATCTACGGGGCCCTGAATTGGTAT CAGAGGAAGCCCGGCAAAGCTCCTAAGCT GCTGATCTACGGTGCCACAAACCTGGCTG ATGGCGTGCCCTCCAGATTCAGCGGCTCT GGAAGTGGGCGCGACTATACTCTGACCAT**

	TTCTAGTCTGCAGCCAGAGGATTTCGCCA CCTACTATTGCCAGAATGTGCTGATCACAC CCTACACTTTTGGTCAGGGCACAAAACTG GAAATTAAGCGTACGGTGGCTGCACCATC TGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCA GTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTG CCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGC CAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCT CCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCA CAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAA AGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGC CTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCT CGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA GAGTGTTGA
Secuencia de nucleótidos de la cadena liviana sin la secuencia señal (SEQ ID N.º 113)	**GACATCCAGATGACTCAGAGCCCATCCAG CCTGTCAGCCTCCGTGGGCGACAGGGTGA CCATCACATGTGGAGCATCCGAGAACATC TACGGGGCCCTGAATTGGTATCAGAGGAA GCCCGGCAAAGCTCCTAAGCTGCTGATCT ACGGTGCCACAAACCTGGCTGATGGCGTG CCCTCCAGATTCAGCGGCTCTGGAAGTGG GCGCGACTATACTCTGACCATTTCTAGTCT GCAGCCAGAGGATTTCGCCACCTACTATT GCCAGAATGTGCTGATCACACCCTACACT TTTGGTCAGGGCACAAAACTGGAAATTAA G**CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCAT CTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATC TGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGG GTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAG CAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACT ACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAG TCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC ACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 32)	**GACATCCAGATGACTCAGAGCCCATCCAG CCTGTCAGCCTCCGTGGGCGACAGGGTGA CCATCACATGTGGAGCATCCGAGAACATC TACGGGGCCCTGAATTGGTATCAGAGGAA GCCCGGCAAAGCTCCTAAGCTGCTGATCT ACGGTGCCACAAACCTGGCTGATGGCGTG CCCTCCAGATTCAGCGGCTCTGGAAGTGG GCGCGACTATACTCTGACCATTTCTAGTCT GCAGCCAGAGGATTTCGCCACCTACTATT GCCAGAATGTGCTGATCACACCCTACACT TTTGGTCAGGGCACAAAACTGGAAATTAA G**

Tabla 13. Secuencias de aminoácidos codificadas por los genes de la línea germinal humana

Descripción	Secuencia
IGHV1-46*03 (SEQ ID N.º 57)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCAR
JH4 (SEQ ID N.º 58)	WGQGTLVTVSS
IGKV1D-39*01 (SEQ ID N.º 59)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSY LNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYST PP

[0263] Sobre la base de los resultados de la evaluación, se seleccionaron los anticuerpos 36LK3/36HC2 ("HC2/LK3") y 36LC3/36HC2 ("HC2/LC3") para realizar estudios adicionales. Con estos dos anticuerpos, se llevaron a cabo ensayos de quimiotaxis *in vitro* en paralelo con el clon progenitor de ratón 36F7C10 y con su forma quimérica (que comprende una porción Fc humana). En este ensayo, se emplearon placas de cultivo con cavidades transparentes, con células B300.19 CCR6+ sembradas en la capa superior y el ligando CCL20 humano recombinante en la capa inferior. Se preincubó CCL20 humano recombinante (en una concentración final de 10 nM, R&D Systems) con los anticuerpos humanizados anti-CCL20 a temperatura ambiente. Después de 30 minutos, se aplicaron células B murinas transducidas con CCR6 humano (B300.19, que fueron provistas por el Dr. H. Kawasaki, de la Universidad de Tokio) en la capa superior y se dejó proceder la quimiotaxis a 37°C durante 4 horas. Al final de la incubación, se usó un análisis de FACS para determinar la cantidad de células que migraron. Posteriormente, se calcularon las constantes de inhibición al 50 %, al 90 % y al 95 % (IC_{50}, IC_{90} e IC_{95}, respectivamente) para HC2/LK3 y para HC2/LC3 (tabla 14). Ninguno de los anticuerpos humanizados perdió su actividad de neutralización en comparación con el anticuerpo monoclonal progenitor de ratón: los valores de la IC_{50} fueron de aproximadamente 1 nM.

Tabla 14. Actividad de neutralización de HC2/LK3 y HC2/LC3 contra CCL20 humano en un ensayo de quimiotaxis (nM)

	Anticuerpo monoclonal de ratón	Anticuerpo monoclonal quimérico
IC_{50}	1,697 ± 0,464	1,438 ± 0,216
IC_{90}	3,944 ± 0,593	3,510 ± 0,601
IC_{95}	7,680 ± 2,966	5,480 ± 1,179

Anticuerpo monoclonal humanizado HC2/LK3				
Ensayo	1	2	3	Promedio
IC_{50}	0,65	1,09	1,30	1,014 ± 0,330
IC_{90}	3,55	3,35	6,79	4,564 ± 1,928
IC_{95}	7,59	5,41	13,91	8,972 ± 4,417
Anticuerpo monoclonal humanizado HC2/LC3				
Ensayo	1	2	3	Promedio
IC_{50}	0,90	1,26	1,20	1,117 ± 0,193
IC_{90}	4,64	5,82	5,30	5,251 ± 0,591
IC_{95}	11,77	>66,77	10,33	--

En las figuras 8A-C se ilustran las respuestas a las dosis que se obtuvieron en una prueba representativa con el anticuerpo HC2/LK3. Se representan tres experimentos independientes.

[0264] La actividad de neutralización de HC2/LK3 y HC2/LC3 también se confirmó usando un ensayo de la migración transendotelial (TEM), donde se emplearon

células mononucleares de sangre periférica humana aisladas recientemente en lugar de células artificiales transducidas con CCR6. Debido a que es bien sabido que entre las células T de memoria CD3+CD4+CD45RO+ y las células B CD19+ hay una gran cantidad de células positivas para CCR6, se determinó la cantidad de células de estas poblaciones que migraron en presencia o ausencia de los anticuerpos HC2/LK3 y HC2/LC3 o del anticuerpo de ratón progenitor 36F7C10. Los dos anticuerpos humanizados (figuras 9B y C) ejercieron una inhibición de la migración dependiente de la dosis que fue comparable a la que provocó el anticuerpo 36F7C10 (figura 9A), lo que constituye una evidencia adicional de su actividad de neutralización.

Ejemplo 5. Unión de los anticuerpos monoclonales anti-CCL20 humano humanizados a CCL20 humano

[0265] Para medir la afinidad de unión de los anticuerpos humanizados HC2/LC3 y HC2/LK3 por medio de una resonancia de plasmón superficial (Biacore™), se expresaron y se purificaron los anticuerpos a partir de un medio acondicionado con células HEK293F que habían sido transfectadas de manera estable, para luego capturarlos en un chip CM5 recubierto con anticuerpos monoclonales contra el fragmento Fc humano, usando HBS-EP como amortiguador para el procedimiento. Después, se inyectaron diversas diluciones (100, 20, 4, 0,8, 0,16 y 0 nM) de la proteína CCL20 humana (R&D Systems) en la superficie del chip cubierto y se observó la disociación de CCL20 unido durante un período de hasta 20 minutos (figuras 10A y B). Se ajustaron los datos de la unión globalmente con

un modelo de Langmuir 1:1. Los resultados se proveen en la tabla 15 y representan el promedio de dos experimentos independientes. Se ha informado que la afinidad entre CCL20 y su receptor, CCR6, es de 500 pM en las células primarias humanas (Liao *et al.*, *J. Immunol.* 168(10):4871-4880 (2002)). Con los datos obtenidos, se demuestra que las afinidades de los anticuerpos HC2/LC3 y HC2/LK3 por CCL20 son aproximadamente 10 veces mayores que la afinidad de CCR6 por CCL20.

Tabla 15. Resultados del análisis de SPR con los anticuerpos humanizados anti-CCL20 de la invención

Cadena pesada/cadena liviana	k_a (x 10^5 M^{-1}segundo^{-1})	k_d (x 10^{-5} segundo^{-1})	K_D (pM)	Desviación estándar
HC2/LC3	145	61	44	15
HC2/LK3	166	117	70	7

Ejemplo 6. Reactividad transversal de los anticuerpos monoclonales anti-CCL20 humano humanizados con parálogos de quimioquinas

[0266] Se examinó la especificidad por CCL20 humano de HC2/LK3 y de HC2/LC3 analizando su reactividad transversal con un panel de quimioquinas (tabla 16), a través de un ensayo inmunosorbente ligado a enzimas (ELISA).

Tabla 16. Quimioquinas humanas recombinantes usadas en el ensayo de ELISA

Quimioquina	Fabricante	Cat. n.º

CCL20	MIP-3a/LARC	R&D	360-MP-025/CF
XCL1	Ltn	R&D	695-LT-025/CF
CCL28		R&D	717-VC-025/CF
CCL27	CTACK	R&D	376-CT-025/CF
CCL25	TECK	GT	2234X
CCL24	Eotaxina-2/MPIF-2	GT	2343X
CCL22	MDC	R&D	336-MD-025/CF
CCL21	6Cquina/SLC	R&D	366-6C-025/CF
CCL19	MIP-3b	R&D	361-MI-025/CF
CCL17	TARC	GT	2364
CCL16	HCC-4	R&D	802-HC-025/CF
CCL13	MCP-4	GT	2327X
CCL11	Eotaxina	R&D	320-EO-020/CF
CCL7	MARC	R&D	282-P3-010/CF
CCL5	Rantes	CHEMICON	GF020
CCL4	MIP-1β	R&D	271-BME-010/CF
CCL3	MIP-1a	GT	2270X
CCL2	MCP-1/MCAF/JE	PEPRO TECH	300-04
CCL1	TCA3/I-309	GT	2272
CXCL16	CXCL16	GT	2976X
CXCL13	BCA-1/BLC	R&D	801-CX-025/CF

CXCL12	SDF-1/PBSF	R&D	350-NS-010/CF
CXCL10	IP-10	PEPRO TECH	300-12
CXCL9	MIG	GT	2392X
CXCL8	IL-8	PEPRO TECH	200-08M
CXCL4	PF4	R&D	795-P4-025/CF
CXCL2	GROβ	R&D	276-GB-010/CF
CXCL1	GROα	R&D	275-GR-010/CF
CX3CL1 (dominio de quimioquina)	FKN	R&D	362-CX-025/CF
CX3CL1 (dominio extracelular)	FKN	R&D	365-FR-025/CF

Se recubrieron las cavidades de una placa de 96 cavidades con 1 µg/ml de las quimioquinas humanas recombinantes en PBS (-). Después de incubar durante la noche a 4ºC, se bloquearon las cavidades con Block-Ace 1x (Dainippon Sumitomo Pharma, UK-B80) durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de lavar dos veces con Tween 20/PBS (-) al 0,02 %, en cada cavidad se agregaron 50 µl de una solución con 10 µg/ml de un anticuerpo 36F7C10 purificado, de un anticuerpo 36F710 quimérico, de un anticuerpo HC2/LK3 o de un anticuerpo HC2/LC3 en Tween 20/PBS (-) al 0,02 %. Las cavidades se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente y se lavaron tres veces como se describe en el ejemplo 3. Luego se agregó un anticuerpo anti-IgG de ratón conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP; Jackson, n.º 715-035-150, para 36F7C10) o un anticuerpo contra el fragmento Fcγ de la IgG humana conjugado con HRP

(Jackson, n.º 109-035-098, para los anticuerpos quiméricos y humanizados), en una dilución al 5000º en Tween 20/PBS (-) al 0,02 %, y se incubaron las cavidades durante 1 hora a temperatura ambiente. Se realizaron cinco lavados, se agregó una solución de TMBZ (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) al 1 % en N,N-dimetilformamida a las cavidades y se incubó durante 15-30 minutos. Se detuvo la reacción agregando un volumen idéntico de una solución de terminación con H_2SO_4 2 M y se leyó la densidad óptica a 450 nm con un dispositivo ARVO (PerkinElmer). Tal como se ilustra en la figura 11B, los anticuerpos HC2/LK3 y HC2/LC3 se unieron específicamente a CCL20 humano, en una medida muy superior a las otras quimioquinas en el panel.

[0267] En estos ensayos, aunque HC2/LK3 reaccionó contra CCL20 humano unido a las placas, pareció presentar una potencia menor que los anticuerpos de ratón 36F7C10 o x36F7C10-hFc (figura 11A). Sin embargo, el anticuerpo HC2/LK3 presentó una unión clara y fuerte con CCL20 anclado a través de una marca de His en los ensayos de ELISA (figura 11C), que posibilitó la exposición de la totalidad de las porciones de CCL20 al solvente. Esto puede reflejar que hay uno o más epitopes de CCL20 para HC2/LK3 que quedan cubiertos u ocluidos durante el procedimiento que se emplea para unir CCL20 a la superficie de la placa en el primer formato de ensayo. Para evitar este posible artefacto, se empleó un análisis Biacore™, donde se aplicó CCL20 libre sobre anticuerpos monoclonales que habían sido capturados en un chip sensor. En los ensayos Biacore™, los anticuerpos HC2/LK3 y HC2/LC3 presentaron una unión fuerte con CCL20, que fue comparable a la que presentó el anticuerpo quimérico progenitor 36F7C10-hFc (figura 11D). Además, se estableció que la reacción pequeña contra CXCL4 que se había observado en la figura 11B era insignificante en los ensayos Biacore™

(figura 11D).

[0268] Por medio de un análisis filogenético, Dereeper *et al.* (*Nucleic Acids Res.* 1(36):W465-469 (2008)) habían indicado que CCL16 es la quimioquina que presenta la secuencia más cercana a CCL20, aunque el porcentaje de identidad entre CCL20 y CCL16 es menor que 37,5 % (solamente hay homología en 56 de los 70 aminoácidos que constituyen el péptido CCL20 maduro (SIM – Herramienta de Alineamiento para Secuencias de Proteínas, Instituto Suizo de Bioinformática); figura 12). Se usó un análisis Biacore™ para determinar si los anticuerpos HC2/LK3 y HC2/LC3 reaccionaban de manera transversal con CCL16. Se inmovilizó un anticuerpo monoclonal de ratón contra el fragmento Fc humano en las cuatro celdas de flujo de un chip CM5, con una velocidad de flujo de 25 µl/minuto, con un amortiguador HBS-EP que contenía 0,2 mg/ml de BSA. Posteriormente, en las celdas de flujo 2, 3 y 4 se inyectaron 50 µl de una solución con 1 µg/ml del anticuerpo quimérico, del anticuerpo HC2/LC3 o del anticuerpo HC2/LK3, respectivamente, en un amortiguador HBS-EP con 0,2 mg/ml de BSA. Luego se inyectaron 150 µl de una solución 100 nM de CCL20 o de CCL16 en el amortiguador HBS-EP (o en un amortiguador solo) con 0,2 mg/ml de BSA en las cuatro celdas de flujo, con una velocidad de flujo de 40 µl/minuto. Se monitoreó la disociación durante 20 minutos. Se usó la celda de flujo 1 (que contenía el anticuerpo contra el fragmento Fc humano solo) como referencia para todas las celdas de flujo.

[0269] Bajo estas condiciones, el anticuerpo quimérico (figura 13A), el anticuerpo HC2/LC3 (figura 13B) y el anticuerpo HC2/LK3 (figura 13B) se unieron a CCL20 humano capturado en el chip con una fuerza similar (figura 13). En contraste, no se detectó una unión significativa cuando se aplicó CCL16 humano sobre el chip, lo que refleja que, aunque CCL16 es la quimioquina que presenta la secuencia más cercana a la de CCL20, CCL20 o CCL16, no presenta una homología

suficiente (<37 %, tal como se indicó con anterioridad) para permitir que los anticuerpos humanizados anti-CCL20 reaccionen de manera transversal con CCL16.

[0270] Con estos datos, se demuestra que HC2/LK3 y HC2/LC3 presentan especificidad por CCL20 humano, en comparación con otras quimioquinas.

Ejemplo 7. Reactividad transversal de los anticuerpos monoclonales anti-CCL20 humano humanizados con ortólogos de otras especies

[0271] Posteriormente, se determinó la reactividad transversal de los anticuerpos monoclonales HC2/LC3 y HC2/LK3 con CCL20 de otras especies. Sobre la base de los alineamientos que se realizaron con las secuencias de aminoácidos de diversos ortólogos de CCL20 (que se obtuvieron usando SIM –Herramienta de Alineamiento para Secuencias de Proteínas, Instituto Suizo de Bioinformática)), puede concluirse que la identidad entre CCL20 de mono cangrejero o de macaco Rhesus y CCL20 humano es de 86 %, mientras que la homología entre CCL20 de ratón y CCL20 humano es de 64 % (figura 14; CCL20 humano – SEQ ID N.º 85; CCL20 de macaco Rhesus – SEQ ID N.º 86; CCL20 de mono cangrejero – SEQ ID N.º 87; CCL20 de ratón parcial – SEQ ID N.º 88; la secuencia de aminoácidos completa de CCL20 humano de ratón puede hallarse en SEQ ID N.º 102, donde los residuos 1-27 constituyen la secuencia señal, según puede observarse en la tabla 18).

[0272] Para determinar si el anticuerpo quimérico y el anticuerpo humanizado pueden unirse a los ortólogos de CCL20 de ratón, de mono cangrejero o de macaco Rhesus, se usaron ensayos de ELISA, tal como se ilustra en la figura 15. Se diseñaron proteínas de fusión recombinantes que comprendían una fosfatasa alcalina secretada (SEAP) y una quimioquina para todos los ortólogos de CCL20 que se evaluaron, tal como se describe en el ejemplo 2, se las expresó y se las

purificó. Se recubrieron placas negras de fondo plano Nunc MaxiSorb con 1 µg/ml de una fosfatasa alcalina placentaria de ratón anti-humana (Pierce, cat. n.º MA1-19354) en bicarbonato de sodio 50 mM, a un pH de 9,4, durante la noche a 4ºC. Luego se bloquearon las placas usando solución salina amortiguada con fosfato 1x, con Tween-20 (PBST) con 5 % de albúmina de suero bovino (BSA), durante 2 horas a temperatura ambiente. Se sometieron las proteínas de fusión SEAP-CCL20 en una concentración de 20 nM a una dilución al 5º en serie con el medio Opti-MEM (Invitrogen). El anticuerpo quimérico y el anticuerpo humanizado (HC2/LC3 y HC2/LK3) se diluyeron hasta 1 µg/ml en PBST 1x con 5 % de BSA, se los agregó a las placas y se los incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego se lavaron las placas tres veces con PBST 1x con 5 % de BSA. Se diluyó un anticuerpo de cabra contra la IgG y la IgM humanas (H+L) conjugado con HRP (Jackson ImmunoResearch, cat. n.º 109-035-127) hasta 80 ng/ml, se lo agregó a la placa y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Se agregó el sustrato fluorescente para la HRP QuantaBlu (Pierce, cat. n.º 15169) para detectar el anticuerpo unido. Para ello, se midió la fluorescencia en un lector de placas Molecular Devices M5 (con una excitación a 325 nm y una emisión a 420 nm).

[0273] Si bien el anticuerpo monoclonal de hámster anti-CCL20 de ratón 2F5-5 se unió a CCL20 de ratón con una dosis eficaz al 50 % (EC_{50}) de 64 pM (datos no presentados), ni el anticuerpo quimérico ni el anticuerpo humanizado anti-CCL20 humano presentaron una unión detectable con CCL20 de ratón o de rata CCL20 bajo las condiciones que se describieron con anterioridad. En contraste, el anticuerpo quimérico y el anticuerpo humanizado se unieron de manera efectiva a CCL20 humano, de macaco Rhesus y de mono cangrejero (figuras 16A-C y 17A y B). Si bien la EC_{50} para CCL20 humano y de macaco Rhesus pareció similar (por ejemplo, 62 y 101 pM para HC2/LC3), la EC_{50} para CCL20 de mono cangrejero fue de 340 pM para HC2/LC3, lo que representa una diferencia de 5,4 veces en

comparación con CCL20 humano. Se observaron resultados similares con HC2/LK3. Esto reflejaría que es necesaria una concentración muy superior del anticuerpo para obtener una unión de la misma magnitud a CCL20 mono cangrejero, en comparación con CCL20 humano o de macaco Rhesus.

Ejemplo 8. Ensayos de resonancia de plasmón superficial para determinar la reactividad transversal de los anticuerpos monoclonales anti-CCL20 humanizados con ortólogos de CCL20 de otras especies

[0274] También se usó un análisis de resonancia de plasmón superficial (Biacore™) para determinar si HC2/LC3 y HC2/LK3 podían unirse a los ortólogos de CCL20 de ratón, de mono cangrejero o de macaco Rhesus. Se inmovilizó una fosfatasa alcalina placentaria de ratón anti-humana en las cuatro celdas de flujo de un chip CM5, con una velocidad de flujo de 25 µl/minuto. Se inyectaron 25 µl de una solución 2 nM de CCL20-SEAP humano, de macaco Rhesus, de mono cangrejero o de ratón, en un amortiguador HBS-EP, en las celdas de flujo 2, 3 y 4. Para analizar la unión a los anticuerpos, se inyectaron 240 µl de diluciones 0-80 nM de HC2/LC3, de HC2/LK3 o del anticuerpo monoclonal 2F5-5 en el amortiguador HBS-EP (o en un amortiguador solo) en las cuatro celdas de flujo, con una velocidad de flujo de 50 µl/minuto. Se monitoreó la disociación durante 45 minutos. Se usó la celda de flujo 1 (que contenía el anticuerpo anti-SEAP solo) como referencia para todas las celdas de flujo. Las celdas de flujo se regeneraron con glicina 10 mM a un pH de 2,25. Debido a los efectos de la regeneración sobre la capacidad de captura de los chips, las inyecciones con los anticuerpos se efectuaron de manera secuencial, desde la concentración más baja hasta la

concentración más alta. Los datos se ajustaron usando un modelo de Langmuir 1:1.

[0275] Bajo las condiciones descriptas, el anticuerpo de hámster anti-CCL20 de ratón 2F5-5 se unió a CCL20 de ratón con una K_D (bivalente) de 4,9 pM, pero no presentó una unión significativa con CCL20 humano, de macaco Rhesus o de mono cangrejero. En contraste, el anticuerpo quimérico, el anticuerpo HC2/LC3 y el anticuerpo HC2/LK3 se unieron de manera eficaz a CCL20 humano, de macaco Rhesus y de mono cangrejero (tabla 17).

[0276] Los valores de la afinidad aparente que se determinaron en este ensayo fueron mayores que los que se habían determinado con anterioridad en el ejemplo 5 (por ejemplo, 4,7 pM para HC2/LC3 en este ensayo, en comparación con 44 pM, véase la tabla 3), a causa de la naturaleza bivalente (la mayor afinidad) del formato del ensayo usado (en comparación con el formato monovalente que se empleó para obtener los datos que se proveen en la tabla 15). Los valores de la K_D para CCL20 de macaco Rhesus y de mono cangrejero generalmente fueron mayores (el triple) que para CCL20 humano, lo que refleja que los anticuerpos se unieron con mayor especificidad a CCL20 humano. Sin embargo, en contraste con los datos del ELISA del ejemplo 7, no se observaron diferencias significativas entre la afinidad de unión por CCL20 de macaco Rhesus o de mono cangrejero.

Tabla 17. Evaluación de la unión de los anticuerpos monoclonales anti-CCL20 humanizados a los ortólogos de CCL20, determinada con un ensayo Biacore™

Anticuerpo	Ligando	k_a (x 10^5 M^-	k_d (x 10^{-5}	K_D (pM)

		^{1}segundo^{-1})	segundo^{-1})	
Clon quimérico 36F7C10[a]	hCCL20	29	2,08	7,16
	rCCL20	29,4	1,78	6,05
	cCCL20	38,3	5,04	13,2
HC2/LC3	hCCL20	56,9	2,68	4,71
	rCCL20	41,3	7,51	18,2
	cCCL20	86,4	13,4	15,5
HC2/LK3	hCCL20	28,8	3,39	11,8
	rCCL20	26,3	8,21	31,2
	cCCL20	52,8	14,9	28,3
Anticuerpo de hámster anti-ratón 2F5-5[b]	hCCL20	Sin unión	Sin unión	Sin unión
	rCCL20	Sin unión	Sin unión	Sin unión
	cCCL20	Sin unión	Sin unión	Sin unión
	mCCL20	9,63	0,474	4,92

[a]Con anterioridad, se había demostrado que no se une a mCCL20

[b]Los datos del anticuerpo de hámster anti-ratón se obtuvieron con el chip anterior

Ejemplo 9. Mapeo de epitopes con el clon de ratón anti-CCL20 humano 36F7C10

[0277] Para determinar los epitopes de CCL20 humano a los que se une el anticuerpo monoclonal de ratón anti-CCL20 humano 36F7C10, se usó un método de intercambio de hidrógeno/deuterio en el cual, a través de la unión del

anticuerpo, se protege y se preserva la deuteración de los epitopes. Tal como se ilustra en la figura 18A, se observaron perturbaciones notables cerca del extremo N de CCL20 humano, en los residuos 7-9, 10-19 y 20-22, que posiblemente representan uno o más epitopes. También se observó una protección marginal cerca del extremo C, en los residuos 39-55, 56-67 y 61-70. Estos segmentos pueden ser periféricos con relación a los uno o más epitopes, o sus movimientos respiratorios pueden estar conjugados con ellos. El nivel de deuteración de cada aminoácido indicado se representa en cuatro puntos de tiempo (desde la parte superior, 150 segundos, 500 segundos, 1500 segundos y 5000 segundos).

[0278] Las regiones que se identificaron como epitopes para 36F7C10 se encuentran cerca de las regiones hacia el extremo N y del rizo de CCL20, de las que se sabe que son críticas para la unión a CCR6 y la señalización (Malik *et al.*, *Acta Cryst* F62:631-634 (2006); figura 18B). Se espera que los anticuerpos quiméricos y los anticuerpos humanizados que deriven de 36F7C10, especialmente los anticuerpos que presenten secuencias de aminoácidos idénticas a las de 36F7C10 en la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la cadena pesada y la cadena liviana, o los anticuerpos que presenten secuencias de aminoácidos similares a las de 36F7C10 en la CDR1, la CDR2 y la CDR3 (por ejemplo, con menos de 3, 2 o 1 sustitución de aminoácidos, en comparación con las CDR de 36F7C10), puedan unirse al mismo epitope. Por consiguiente, mediante la identificación de este epitope puede explicarse la capacidad del anticuerpo monoclonal 36F7C10, del anticuerpo quimérico y de los anticuerpos humanizados derivados de ellos de neutralizar la actividad de CCL20.

Ejemplo 10. Ensayo de quimiotaxis *in vivo* con anticuerpos humanizados anti-CCL20 humano

[0279] Para determinar si HC2/LC3 y HC2/LK3 pueden inhibir la quimiotaxis inducida por CCL20 *in vivo*, se aprovechó el hecho de que CCL20 humano puede interactuar con CCR6 de ratón (SEQ ID N.º 106) para inducir quimiotaxis entre las células T de ratón (figura 19). Se usó un sistema híbrido *in vivo* para medir la migración de las células T de ratón hacia CCL20 humano inyectado por vía intradérmica (figura 20).

[0280] Por vía intradérmica, se inyectó CCL20 humano recombinante (10 ng/cabeza) y el vehículo en la piel afeitada de los lados izquierdo y derecho, respectivamente, del dorso de los ratones de prueba (en grupos de 3). Luego se transfirieron células T de bazo de ratón marcadas con calceína-AM (a razón de 5 x 10^6 células/ratón), por vía intravenosa, en la vena caudal, con la inyección simultánea de los anticuerpos indicados en la vena caudal, en las dosis que se detallan en la figura 20. Después de una hora, se contaron las células fluorescentes positivas en el sitio de las inyecciones intradérmicas usando un microscopio estereoscópico.

[0281] Tanto HC2/LK3 como HC2/LC3 inhibieron significativamente la migración de las células hacia los sitios donde se había inyectado CCL20, en un nivel comparable al que se obtuvo con el anticuerpo progenitor de ratón 36F7C10 o con su forma quimérica. Debido a que la quimiotaxis de las células T es un paso fundamental en la cascada inflamatoria, la prevención de esta migración tiene

implicaciones clínicas en el tratamiento de las afecciones autoinmunes e inflamatorias.

Ejemplo 11. Efecto del anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre la artritis tipo II inducida con colágeno

[0282] Para analizar con mayor detalle la posibilidad de usar los anticuerpos anti-CCL20 para propósitos terapéuticos, se llevaron a cabo estudios *in vivo* adicionales en ratones donde se usó el anticuerpo monoclonal de hámster anti-ratón 2F5-5. Primero, se evaluó la capacidad de 2F5-5 de neutralizar la quimiotaxis mediada por CCL20 en ratones con CIA (un modelo de artritis reumática en animales). La CIA se indujo esencialmente como se describe en el ejemplo 1. Una vez desarrollada la artritis (es decir, una calificación de la artritis de 1-3), se distribuyeron los ratones al azar y se los trató con 500 µg/ratón del anticuerpo monoclonal 2F5-5 o de un anticuerpo control del tipo de la IgG. En ambos casos, el anticuerpo se administró día por medio por vía intravenosa. En comparación con el anticuerpo control del tipo de la IgG, el anticuerpo monoclonal 2F5-5 inhibió el progreso de los síntomas de la artritis (figuras 21 y 22).

[0283] También se usó un análisis de rayos X para determinar los efectos del anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre las lesiones en los huesos que frecuentemente se observan en la artritis reumática. La calificación se realizó como se describe en Inoue *et al.*, *Agents Actions* 39:187-194 (1993). En resumen, cada pata de los ratones con CIA se calificó con una escala entre 0 y 3, en función de la severidad de la osteoporosis (O), la erosión en los huesos (E) y la formación

de huesos nuevos (N), sobre la base de imágenes obtenidas con rayos X. En la escala usada, 0 representó la ausencia de cambios, 1 representó la presencia de cambios ligeros, 2 representó la presencia de cambios moderados y 3 representó la presencia de cambios severos. Se sumaron las calificaciones de cada factor para desarrollar una calificación acumulativa para las lesiones en los huesos basada en el análisis de rayos X. El día 39, los ratones que habían sido tratados con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 presentaron calificaciones basadas en el análisis de rayos X que fueron notablemente menores que las que se determinaron en los ratones que habían sido tratados con el anticuerpo control del tipo de la IgG (figuras 23 y 24).

[0284] Se confirmó el efecto del tratamiento con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre la patología en los huesos analizando diversos marcadores biológicos con un ELISA. Los ratones con CIA fueron inmunizados y tratados con 500 µg del anticuerpo 2F5-5 o del anticuerpo control del tipo de la IgG, según se describió con anterioridad. Se prepararon muestras del plasma de los ratones el día 11 o 12 después de la segunda inmunización. Se cuantificó un marcador de la destrucción de los cartílagos, la proteína oligomérica de la matriz del cartílago en el suero (COMP), usando el conjunto de elementos de immunoensayo con enzimas ELISA para COMP en animales (AnaMar Medical), de acuerdo con las instrucciones del fabricante (que se incorporan en la presente a modo de referencia), excepto que las muestras del plasma de los animales fueron sometidas a una dilución de 1:20. Debido a que la COMP se aplica como recubrimiento sobre la placa con antelación, se trata de un ELISA de competición, de modo que la adición de una

referencia de COMP o de plasma que contiene COMP da como resultado una disminución en la OD_{450} (figura 25A). En las figuras 25B y 25C se proveen los datos en bruto de una muestra del ensayo. Los niveles de la COMP en el suero de los ratones con CIA se redujeron hasta alcanzar niveles prácticamente normales cuando se aplicó el tratamiento con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 (figura 26), con lo que se demuestra la capacidad de 2F5-5 de inhibir la destrucción de los cartílagos.

[0285] Debido a que la formación y la diferenciación de los osteoclastos dan como resultado la osteoporosis y la erosión asociadas a la RA, se determinaron los niveles del receptor del activador del factor nuclear inductor de los oesteoclastos κB (RANKL) y de otros marcadores de los osteoclastos, a saber, el receptor del activador del factor nuclear κB (RANK), la fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP) y la catepsina K, como indicadores del éxito de la terapia de la artritis. Se analizaron los niveles de expresión del ARNm de estos marcadores por medio de una PCR cuantitativa donde se empleó ARN total aislado de patas de ratón homogenizadas. Primero, las patas se homogenizaron con un homogenizador, después de embeberlas en un amortiguador para lisar tejidos que contenía el reactivo Trizol (Invitrogen, CA, EE. UU.). Después de agregar cloroformo, se centrifugaron las muestras a 14000 rpm, durante 15 minutos a 4°C, de manera tal de dividir la solución en una fase acuosa y una fase orgánica. Se recuperó la fase acuosa y se le agregó isopropanol, a lo que siguió una centrifugación a 14000 rpm durante 15 minutos a 4°C, con el propósito de obtener precipitados de ARN. Se usaron precipitados de ARN disueltos con agua libre de ARNasas en un conjunto

de elementos RNAeasy mini (QIAGEN, Valencia, CA, EE. UU.) para aislar el ARN, después de lo cual se aplicó un tratamiento con una ADNasa para remover el ADN. El ADN complementario (ADNc) se generó con un conjunto de elementos para llevar a cabo una reacción con una transcriptasa inversa (el conjunto de elementos de PCR con ARN de TAKARA Bio, Inc. Shiga, Japón), de acuerdo con el protocolo del fabricante. Se llevó a cabo una PCR cuantitativa en tiempo real con cada especie de ADNc y se compararon los resultados obtenidos con el nivel de un gen de mantenimiento, el gen de la hipoxantina guanina fosforribosil transferasa (HPRT). En las reacciones de PCR, se emplearon los siguientes conjuntos de cebadores directos e inversos:

RANKL, 5'-CATTTGCACACCTCACCATC-3' (SEQ ID N.º 89) y
5'-TCCGTTGCTTAACGTCATGT-3' (SEQ ID N.º 90);
RANK, 5'-CGGCGTTTACTACAGGAAGG-3' (SEQ ID N.º 91) y
5'-TTCTTGCTGACTGGAGGTTG-3' (SEQ ID N.º 92);
TRAP, 5'-GCTGGAAACCATGATCACCT-3' (SEQ ID N.º 93) y
5'-GGTAGTAAGGGCTGGGGAAG-3' (SEQ ID N.º 94);
Catepsina K, 5'-CAGTGTTGGTGGTGGGCTAT-3' (SEQ ID N.º 95) y
5'-CCGAGCCAAGAGAGCATATC-3' (SEQ ID N.º 96); y
HPRT, 5'-CAGGCCAGACTTTGTTGGAT-3' (SEQ ID N.º 97) y
5'-TTGCGCTCATCTTAGGCTTT-3' (SEQ ID N.º 98).

Todos los cebadores se diseñaron usando el software de Internet Primer 3 (del Instituto de Investigación Biomédica Whitehead, Cambridge, MA, EE. UU.) para evitar la amplificación no específica del ARN. En la reacción de amplificación,

se emplearon mezclas con el ADNc molde, los cebadores, una uracilo ADN glucosilasa (Invitrogen, CA, EE. UU.) y la mezcla maestra para PCR QuantiTect SYBR Green (QIAGEN, Valencia, CA, EE. UU.), en un sistema de detección de secuencias ABI PRISM 7700 (Applied Biosystems, Foster, CA, EE. UU.). Los niveles de expresión fueron cuantificados automáticamente con el software detector de secuencias ABI PRISM 7700.

[0286] Una vez realizado el tratamiento con el anticuerpo monoclonal 2F5-5, se suprimieron los niveles del ARNm de todos los marcadores en el tejido de las articulaciones (en las figuras 27A y B se ilustra el cambio en veces en la expresión, en comparación con el gen de mantenimiento de la HPRT), lo que constituye una evidencia adicional de que 2F5-5 inhibe la patología en los huesos *in vivo*.

Ejemplo 12. Efectos del anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre la artritis inducida con glucosa-6-fosfato isomerasa

[0287] Se evaluaron los efectos antiartríticos del tratamiento con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 en ratones que padecían artritis inducida con glucosa-6-fosfato isomerasa (G6PI), otro modelo de RA en ratones. La artritis se indujo a través de una sensibilización intradérmica con GST-G6PI recombinante (a razón de 300 µg/ratón) emulsionada en el coadyuvante completo de Freund, que se inyectó en la base de la cola de ratones DBA/1. Seis días después de la inmunización con G6PI y justo antes del comienzo de la etapa de hinchazón de las articulaciones, se distribuyeron los ratones al azar y se los trató con 500 µg/ratón de un anticuerpo

con el mismo isotipo o del anticuerpo monoclonal 2F5-5. La severidad de los síntomas de la artritis en las patas de cada ratón se calificó como se describió con anterioridad en el ejemplo 1. Los ratones que fueron tratados con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 presentaron calificaciones de la artritis significativamente más bajas que los ratones que fueron tratados con los anticuerpos del mismo isotipo, con lo que se demuestra que 2F5-5 suprime notablemente el desarrollo de la artritis, en comparación con el control (figura 28).

[0288] Con estos datos, puede demostrarse la eficacia del tratamiento con el anticuerpo anti-CCL20 en modelos de artritis *in vivo*. A partir de esto, puede concluirse que el uso de anticuerpos anti-CCL20 puede ser beneficioso para tratar la artritis reumática.

Ejemplo 13. Efecto del anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre la dermatitis atópica inducida con oxazolona

[0289] Posteriormente, se evaluó el efecto del tratamiento con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 en modelos de dermatitis en ratones. En un modelo, se usó oxazolona para inducir dermatitis atópica en ratones que eran susceptibles a la enfermedad (de la cepa NC/Nga). Se afeitó la piel abdominal de los ratones y se la expuso a oxazolona los días 0, 5 y 8. El día 13, se seleccionaron los ratones que presentaban signos de dermatitis (es decir, una calificación de 2) y se los inmunizó nuevamente con oxazolona. Después, los ratones se distribuyeron al azar en grupos de seis para tratarlos con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 o con un anticuerpo control del tipo de la IgG con el mismo isotipo (a razón de 500 µg/ratón,

con una administración intravenosa día por medio). Se determinaron las calificaciones de la dermatitis en un estudio a ciegas, según se describe a continuación. Cada síntoma de la dermatitis, por ejemplo, la sequedad, la formación de escamas, el eritema, la exudación o la formación de costras y la excoriación, se calificó con una escala entre 0 y 3 (donde 0 representa la ausencia de síntomas, 1 representa la presencia de síntomas leves, 2 representa la presencia de síntomas moderados y 3 representa la presencia de síntomas severos). Las calificaciones se sumaron para obtener una calificación acumulativa para la dermatitis (según se describe en Leung *et al.*, *J. Allergy Clin. Immunol.* 85(5):927-933 (1990)). Se comparó la magnitud de la supresión de la enfermedad entre los dos grupos cuantificando el área bajo la curva ("AUC") entre el día 13 y el día 18. En este modelo de dermatitis, el anticuerpo monoclonal 2F5-5 indujo una supresión de significación estadística ($p < 0,05$) del progreso de la enfermedad, en comparación con el anticuerpo control del tipo de la IgG (figura 29).

Ejemplo 14. Efecto del anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre la dermatitis de contacto alérgica inducida con DNFB

[0290] Se evaluó el efecto del tratamiento con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre la dermatitis de contacto alérgica inducida con dinitrofluorobenceno (DNFB), un segundo modelo de dermatitis en ratones. Los ratones se distribuyeron en grupos de 6 y se sensibilizaron aplicando 25 µl de una solución de DNFB (DNFB al 0,4 % en una mezcla 4:1 de acetona y aceite de oliva) con un pincel en el abdomen afeitado, en dos días consecutivos (los días 0 y 1). Un grupo fue tratado con el anticuerpo monoclonal 2F5-5, mientras que el otro grupo fue tratado con un anticuerpo control con el mismo isotipo (a razón de 500 µg/ratón, que se aplicaron

por vía intravenosa los días 0, 2 y 5). El día 5, los ratones fueron atacados nuevamente: se les aplicaron 20 µl de una solución de DNFB al 0,4 % (en una mezcla 4:1 de acetona y aceite de oliva) en un lado de una oreja. El día 6, usando un calibre, se determinó el grosor de la oreja como un indicador del edema. A través del tratamiento con el anticuerpo monoclonal 2F5-5, fue posible reducir el grosor de las orejas, lo que es indicativo de una prevención exitosa del desarrollo de la dermatitis (figura 30).

[0291] Todas las publicaciones, las patentes y las solicitudes de patentes que se citan en esta memoria descriptiva se incorporan en la presente a modo de referencia. Aunque la presente invención ha sido descripta con un cierto grado de detalle con fines ilustrativos y a modo de ejemplo, con el propósito de facilitar su comprensión, para aquellos versados en la técnica ha de resultar evidente la posibilidad de efectuar determinados cambios y modificaciones, particularmente a la luz de las enseñanzas que se proveen en la presente, sin apartarse del espíritu y el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Tabla 18. Secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de CCL20 y CCR6 humanos y de ratón

Descripción	Tipo de secuencia	SEQ ID N.º (las secuencias señal están subrayadas)	SEQ ID N.º
CCL20 humano con la secuencia señal	Aminoácidos	mcctksllaalmsvlllhlcgeseaasnfdcclgytdril hpkfivgftrqlanegcdinaiifhtkkklsvcanpkqtwv kyivrllskkvknm	85
	Nucleótidos	atgtgctgtaccaagagtttgctcctggctgctttgatgtc agtgctgctactccacctctgcggcgaatcagaagcagcaa gcaactttgactgctgtcttggatacacagaccgtattctt catcctaaatttattgtgggcttcacacggcagctggccaa tgaaggctgtgacatcaatgctatcatctttcacacaaaga aaaagttgtctgtgtgcgcaaatccaaaacagacttgggtg aaatatattgtgcgtctcctcagtaaaaaagtcaagaacat g	101
CCL20 humano sin la secuencia	Aminoácidos	asnfdcclgytdrilhpkfivgftrqlanegcdinaiifht kkklsvcanpkqtwvkyivrllskkvknm	99
	Nucleótidos	gcaagcaactttgactgctgtcttggatacacagaccgtat tcttcatcctaaatttattgtgggcttcacacggcagctgg	100

señal		ccaatgaaggctgtgacatcaatgctatcatctttcacaca aagaaaaagttgtctgtgtgcgcaaatccaaaacagacttg ggtgaaatatattgtgcgtctcctcagtaaaaaagtcaaga acatg	
CCL20 con la secuencia señal	Aminoácidos	macggkrllflalawvllahlcsqaeaasnydcclsyiqtp lpsraivgftrqmadeacdinaiifhtkkrksvcadpkqnw vkravnllslrvkkm	102
	Nucleótidos	atggcctgcggtggcaagcgtctgctcttccttgctttggc atgggtactgctggctcacctctgcagccaggcagaagcag caagcaactacgactgttgcctctcgtacatacagacgcct cttccttccagagctattgtgggtttcacaagacagatggc cgatgaagcttgtgacattaatgctatcatctttcacacga agaaaagaaaatctgtgtgcgctgatccaaagcagaactgg gtgaaaagggctgtgaacctcctcagcctaagagtcaagaa gatg	103
CCR6 humano	Aminoácidos	msgesmnfsdvfdssedyfvsvntsyysvdsemllcslqev rqfsrlfvpiayslicvfgllgnilvvitfafykkarsmtd vyllnmaiadilfvltlpfwavshatgawvfsnatcklkg iyainfncgmlltcismdryiaivqatksfrlrsrtlprs kiiclvvwglsviissstfvfnqkyntqgsdvcepkyqtvs epirwkllmlglellfgffiplmfmifcytfivktlvqaqn skrhkairviiavvlvflacqiphnmvllvtaanlgkmnrs cqsekligytktvtevlaflhcclnpvlyafigqkfrnyfl kilkdlwcvrrkykssgfscagrysenisrqtsetadndna ssftm	104
	Nucleótidos	atgagcggggaatcaatgaatttcagcgatgttttcgactc cagtgaagattattttgtgtcagtcaatacttcatattact cagttgattctgagatgttactgtgctccttgcaggaggtc aggcagttctccaggctatttgtaccgattgcctactcctt gatctgtgtctttggcctcctggggaatattctggtggtga tcacctttgctttttataagaaggccaggtctatgacagac gtctatctcttgaacatggccattgcagacatcctctttgt tcttactctcccattctgggcagtgagtcatgccaccggtg cgtgggttttcagcaatgccacgtgcaagttgctaaaaggc atctatgccatcaactttaactgcgggatgctgctcctgac ttgcattagcatggaccggtacatcgccattgtacaggcga ctaagtcattccggctccgatccagaacactaccgcgcagc aaaatcatctgccttgttgtgtgggggctgtcagtcatcat ctccagctcaacttttgtcttcaaccaaaaatacaacaccc aaggcagcgatgtctgtgaacccaagtaccagactgtctcg gagcccatcaggtggaagctgctgatgttggggcttgagct actctttggtttctttatccctttgatgttcatgatatttt gttacacgttcattgtcaaaaccttggtgcaagctcagaat tctaaaaggcacaaagccatccgtgtaatcatagctgtggt gcttgtgtttctggcttgtcagattcctcataacatggtcc tgcttgtgacggctgcaaatttgggtaaaatgaaccgatcc tgccagagcgaaaagctaattggctatacgaaaactgtcac agaagtcctggctttcctgcactgctgcctgaaccctgtgc tctacgcttttattgggcagaagttcagaaactactttctg aagatcttgaaggacctgtggtgtgtgagaaggaagtacaa gtcctcaggcttctcctgtgccgggaggtactcagaaaaca tttctcggcagaccagtgagaccgcagataacgacaatgcg tcgtccttcactatg	105
CCR6 de	Aminoácidos	mnstesyfgtddydnteyysippdhgpcsleevrnftkvfv piayslicvfgllgnimvvmtfafykkarsmtdvyllnmai	106

ratón		tdilfvltlpfwavthatntwvfsdalcklmkgtyavnfnc gmlllacismdryiaivqatksfrvrsrtlthskvicvavw fisiiissptfifnkkyelqdrdvcepryrsvsepitwkll gmglelffgfftpllfmvfcylfiiktlvqaqnskrhrair vviavvlvflacqiphnmvllvtavntgkvgrscstekvla ytrnvaevlaflhcclnpvlyafigqkfrnyfmkimkdvwc mrrknkmpgflcarvysesyisrqtsetvendnassftm	
	Nucleótidos	atgaattccacagagtcctactttggaacggatgattatga caacacagagtattattctattcctccagaccatgggccat gctccctagaagaggtcagaaacttcaccaaggtatttgtg ccaattgcctactccttaatatgtgtctttggcctcctggg caacattatggtggtgatgacctttgccttctacaagaaag ccagatccatgactgacgtctacctgttgaacatggccatc acagacatactctttgtcctcaccctaccgttctgggcagt tactcatgccaccaacacttgggttttcagcgatgcactgt gtaaactgatgaaaggcacatatgcggtcaactttaactgt gggatgctgctcctggcctgtatcagcatggaccggtacat tgccatcgtccaggcaaccaaatctttccgggtacgctcca gaacactgacgcacagtaaggtcatctgtgtggcagtgtgg ttcatctccatcatcatctcaagccctacatttatcttcaa caagaaatacgagctgcaggatcgtgatgtctgtgagccac ggtacaggtctgtctcagagcccatcacgtggaagctgctg ggtatgggactggagctgttctttgggttcttcacccctttt gctgtttatggtgttctgctatctgttcattatcaagacct tggtgcaggcccagaactccaagaggcacagagcaatccga gtcgtgatcgctgtggttctcgtgttcctggcttgtcagat ccctcacaacatggtcctcctcgtgactgcggtcaacacgg gcaaagtgggccggagctgcagcaccgagaaagtcctcgcc tacaccaggaacgtggccgaggtcctggctttcctgcattg ctgcctcaaccccgtgttgtatgcgtttattggacagaaat tcagaaactacttcatgaagatcatgaaggatgtgtggtgt atgagaaggaagaataagatgcctggcttcctctgtgcccg ggtttactcggaaagctacatctccaggcagaccagtgaga ccgtcgaaaatgataatgcatcgtcctttaccatg	107

Tabla 19. Números de los identificadores de secuencias

SEQ ID N.º	Descripción		
1	HC2	Cadena pesada completa (HC)	Secuencia de aminoácidos
2	HC3		
3	36HKK3		
4	42HKK1		
5	42HKK2		
6	42HKK3		
7	LC3	Cadena liviana completa (LC)	
8	LK3		
9	HC2	Dominio variable de la cadena pesada (VH)	
10	HC3		
11	36HKK3		
12	42HKK1		
13	42HKK2		
14	42HKK3		

15	LC3	Dominio variable de la cadena liviana (VL)	
16	LK3		
17	HC2	Cadena pesada completa (HC)	Secuencia de nucleótidos
18	HC3		
19	36HKK3		
20	42HKK1		
21	42HKK2		
22	42HKK3		
23	LC3	Cadena liviana completa (LC)	
24	LK3		
25	HC2	Dominio variable de la cadena pesada (VH)	
26	HC3		
27	36HKK3		
28	42HKK1		
29	42HKK2		
30	42HKK3		
31	LC3	Dominio variable de la cadena liviana (VL)	
32	LK3		
33	36F7C10	Secuencia señal de la cadena pesada	Secuencia de aminoácidos
34		Secuencia señal de la cadena liviana	
35	40-1C10B9	Secuencia señal de la cadena pesada	
36		Secuencia señal de la cadena liviana	
37	42G5B10	Secuencia señal de la cadena pesada	
38		Secuencia señal de la cadena liviana	
39	36F7C10	VH	
40		VL	
41	40-1C10B9	VH	
42		VL	
43	42G5B10	VH	
44		VL	
45	36F7C10	Secuencia señal de la cadena pesada	Secuencia de nucleótidos
46		Secuencia señal de la cadena liviana	
47	40-1C10B9	Secuencia señal de la cadena pesada	
48		Secuencia señal de la cadena liviana	
49	42G5B10	Secuencia señal de la cadena pesada	
50		Secuencia señal de la cadena liviana	

51	36F7C10	VH	
52		VL	
53	40-1C10B9	VH	
54		VL	
55	42G5B10	VH	
56		VL	
57	Secuencia de la línea germinal IGHV1-46*03		
58	Secuencia de la línea germinal JH4		
59	Secuencia de la línea germinal IGKV1D-39*01		
60	Anticuerpo de ratón 36F7C10 HC2 HC3 36HKK3	H-CDR1 (Kabat)	NYWMH
61	Anticuerpo de ratón 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3		SYWMH
62	IGHV1-46*03/ABM67212		SYYMH
63	Anticuerpo de ratón 36F7C10 HC3 36HKK3	H-CDR2 (Kabat)	VIDPSDSYTTYNQKFKG
64	HC2		VIDPSDSYTTYAQKFQG
65	Anticuerpo de ratón 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3		LIDPSDKYTNYNQKFKG
66	IGHV1-46*03/ABM67212		IINPSGGSTSYAQKFQG
67	Anticuerpo de ratón 36F7C10 HC2 HC3 36HKK3	H-CDR3 (Kabat o Chotia)	GNYGVDYAMDY
68	Ratón 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3		GNYGVDYGMDY
69	ABM67212		EGDGYIQAFDY
70	Anticuerpo de ratón 36F7C10 LK3	L-CDR1 (Kabat o Chotia)	GASENIYGALN
71	LC3		RASENIYGALN
72	IGKV1D-		RASQSISSYLN

	39*01/BAH04867.1		
73	Anticuerpo de ratón 36F7C10 LC3 LK3	L-CDR2 (Kabat o Chotia)	GATNLAD
74	IGKV1D-39*01/BAH04867.1		AASSLQS
75	Anticuerpo de ratón 36F7C10 LC3 LK3	L-CDR3 (Kabat o Chotia)	QNVLITPYT
76	BAH04867.1		QQSYSTPYT
77	Anticuerpo de ratón 36F7C10 HC2 HC3 36HKK3	H-CDR1 (Chotia)	GYTFTNY
78	Anticuerpo de ratón 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3 IGHV1-46*03/ABM67212		GYTFTSY
79	Anticuerpo de ratón 36F7C10 HC2 HC3 36HKK3	H-CDR2 (Chotia)	VIDPSDSYTT
80	Anticuerpo de ratón 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3		LIDPSDKYTN
81	IGHV1-46*03/ABM67212		IINPSGGSTS
82	ABM67212	VH	
83	BAH04867.1	VL	
84	Variante de la secuencia de aminoácidos de CCL20 humano (sin la secuencia señal)		
85	Secuencia de aminoácidos de CCL20 humano (con la secuencia señal)		
86	Secuencia de aminoácidos de CCL20 de macaco Rhesus		
87	Secuencia de aminoácidos de CCL20 de mono cangrejero		
88	Secuencia de aminoácidos de CCL20 de ratón		
89	5'-CATTTGCACACCTCACCATC-3'	RANKL	Cebadores
90	5'-TCCGTTGCTTAACGTCATGT-3'		
91	5'-CGGCGTTTACTACAGGAAGG-3'	RANK	
92	5'-TTCTTGCTGACTGGAGGTTG-3'		

93	5'-GCTGGAAACCATGATCACCT-3'	TRAP	
94	5'-GGTAGTAAGGGCTGGGGAAG-3'		
95	5'-CAGTGTTGGTGGTGGGCTAT-3'	Catepsina K	
96	5'-CCGAGCCAAGAGAGCATATC-3'		
97	5'-CAGGCCAGACTTTGTTGGAT-3'	HPRT	
98	5'-TTGCGCTCATCTTAGGCTTT-3'		
99	Secuencia de aminoácidos de CCL20 humano (sin la secuencia señal)		
100	Secuencia de nucleótidos de CCL20 humano (sin la secuencia señal)		
101	Secuencia de nucleótidos de CCL20 humano (con la secuencia señal)		
102	Secuencia de aminoácidos de CCL20 de ratón (con la secuencia señal)		
103	Secuencia de nucleótidos de CCL20 de ratón (con la secuencia señal)		
104	Secuencia de aminoácidos de CCR6 humano		
105	Secuencia de nucleótidos de CCR6 humano		
106	Secuencia de aminoácidos de CCR6 de ratón		
107	Secuencia de nucleótidos de CCR6 de ratón		
108	Secuencia de aminoácidos completa de HC2 (sin la secuencia señal)		
109	Secuencia de nucleótidos completa de HC2 (sin la secuencia señal)		
110	Secuencia de aminoácidos completa de LC3 (sin la secuencia señal)		
111	Secuencia de nucleótidos completa de LC3 (sin la secuencia señal)		
112	Secuencia de aminoácidos completa de LK3 (sin la secuencia señal)		
113	Secuencia de nucleótidos completa de LK3 (sin la secuencia señal)		
114	Secuencia de aminoácidos parcial de CCL20		
115	Secuencia de aminoácidos parcial de CCL16		

Tabla 20. Secuencias de los anticuerpos humanizados y de ratón

		Secuencias de aminoácidos										Secuencias de nucleótidos			
		HC	LC	VH	VL	H-CDR			L-CDR			HC	LC	VH	VL
						1	2	3	1	2	3				
Cadenas de los anticuerpos anti-CCL20 humano humanizados	HC2	1		9		K: 60 C: 77	K: 64 C: 79	K: 67 C: 67				17		25	
	HC3	2		10		K: 60 C: 77	K: 63 C: 79	K: 67 C: 67				18		26	
	36HKK3	3		11		K: 60 C: 77	K: 63 C: 79	K: 67 C: 67				19		27	
	42HKK1	4		12		K: 61 C: 78	K: 65 C: 80	K: 68 C: 68				20		28	
	42HKK2	5		13		K: 61 C: 78	K: 65 C: 80	K: 68 C: 68				21		29	
	42HKK3	6		14		K: 61 C: 78	K: 65 C: 80	K: 68 C: 68				22		30	
	LC3		7		15				71	73	75		23		31
	LK3		8		16				70	73	75		24		32
Anticuerpos anti-CCL20 humano de ratón	36F7C10			39	40	K: 60 C: 77	K: 63 C: 79	K: 67 C: 67	70	73	75			51	52
	40-1C10B9			41	42									53	54
	42G5B10			43	44	K: 61 C: 78	K: 65 C: 80	K: 68 C: 68						55	56

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE dicho anticuerpo comprende una cadena pesada cuya región de determinación de la complementariedad 3 (CDR3) comprende SEQ ID N.º 67 o 68.

2. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE la región de determinación de la complementariedad 1 (CDR1), la región de determinación de la complementariedad 2 (CDR2) y la región de determinación de la complementariedad 3 (CDR3) de dicha cadena pesada comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

   a) SEQ ID N.º 60, 64 y 67;

   b) SEQ ID N.º 60, 63 y 67;

   c) SEQ ID N.º 61, 65 y 68;

   d) SEQ ID N.º 77, 79 y 67; y

   e) SEQ ID N.º 78, 80 y 68.

3. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE dicho anticuerpo comprende una cadena liviana cuya región de determinación de la complementariedad 3 (CDR3) comprende SEQ ID N.º 75.

4. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 3, CARACTERIZADOS PORQUE la región de determinación de la complementariedad 1 (CDR1), la región de determinación de la complementariedad 2 (CDR2) y la región de

determinación de la complementariedad 3 (CDR3) de dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

a) SEQ ID N.º 70, 73 y 75; y

b) SEQ ID N.º 71, 73 y 75.

5. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 1 o 3, CARACTERIZADOS PORQUE la cadena pesada de dicho anticuerpo comprende una CDR3 que comprende SEQ ID N.º 67 o 68 y la cadena liviana de dicho anticuerpo comprende una CDR3 que comprende SEQ ID N.º 75.

6. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 2 o 4, CARACTERIZADOS PORQUE la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de dicha cadena pesada y la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

a) SEQ ID N.º 60, 64, 67, 70, 73 y 75;

b) SEQ ID N.º 60, 64, 67, 71, 73 y 75;

c) SEQ ID N.º 60, 63, 67, 70, 73 y 75;

d) SEQ ID N.º 60, 63, 67, 71, 73 y 75;

e) SEQ ID N.º 61, 65, 68, 70, 73 y 75;

f) SEQ ID N.º 61, 65, 68, 71, 73 y 75;

g) SEQ ID N.º 77, 79, 67, 70, 73 y 75;

h) SEQ ID N.º 77, 79, 67, 71, 73 y 75;

i) SEQ ID N.º 78, 80, 68, 70, 73 y 75; y

j) SEQ ID N.º 78, 80, 68, 71, 73 y 75.

7. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADOS PORQUE dicho anticuerpo comprende una cadena pesada cuyo dominio variable comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona entre SEQ ID N.º 9-14.

8. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADOS PORQUE dicho anticuerpo comprende una cadena liviana cuyo dominio variable comprende SEQ ID N.º 15 o 16.

9. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, CARACTERIZADOS PORQUE el dominio variable de la cadena pesada y el dominio variable de la cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

   a) SEQ ID N.º 9 y 15;

   b) SEQ ID N.º 9 y 16;

   c) SEQ ID N.º 10 y 16;

   d) SEQ ID N.º 11 y 15;

   e) SEQ ID N.º 11 y 16;

   f) SEQ ID N.º 12 y 16;

   g) SEQ ID N.º 13 y 16; y

   h) SEQ ID N.º 14 y 16.

10. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano CARACTERIZADO PORQUE su cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 1-6, pero sin la secuencia señal, y SEQ ID N.º 108.

11. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano CARACTERIZADO PORQUE su cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 1-6, pero sin la secuencia señal, y SEQ ID N.º 108, donde dicha secuencia de aminoácidos carece de la lisina en el extremo C.

12. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano CARACTERIZADO PORQUE su cadena liviana comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 7 y 8, pero sin la secuencia señal, y SEQ ID N.º 110 y 112.

13. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10-12, CARACTERIZADO PORQUE dicha cadena pesada y dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

    a) SEQ ID N.º 1 y 7;

    b) SEQ ID N.º 1 y 8;

    c) SEQ ID N.º 2 y 8;

    d) SEQ ID N.º 3 y 7;

    e) SEQ ID N.º 3 y 8;

    f) SEQ ID N.º 4 y 8;

    g) SEQ ID N.º 5 y 8;

    h) SEQ ID N.º 6 y 8;

    i) SEQ ID N.º 108 y 110; y

    j) SEQ ID N.º 108 y 112;

    donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal, y donde SEQ ID N.º 1-6 opcionalmente carecen de la lisina en el extremo

C.

14. Un anticuerpo monoclonal CARACTERIZADO PORQUE su cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108 y su cadena liviana comprende SEQ ID N.º 110.

15. Un anticuerpo monoclonal CARACTERIZADO PORQUE su cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108, pero sin la lisina en el extremo C, y su cadena liviana comprende SEQ ID N.º 110.

16. Un anticuerpo monoclonal CARACTERIZADO PORQUE su cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108 y su cadena liviana comprende SEQ ID N.º 112.

17. Un anticuerpo monoclonal CARACTERIZADO PORQUE su cadena pesada comprende SEQ ID N.º 1, pero sin la secuencia señal y sin la lisina en el extremo C, y su cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, pero sin la secuencia señal.

18. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE se une al mismo epitope de CCL20 humano que el anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17.

19. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE compite por la unión a CCL20 humano con el anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17.

20. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE compite de manera

transversal por la unión a CCL20 humano con el anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17.

21. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, CARACTERIZADOS PORQUE el anticuerpo es un anticuerpo humanizado.

22. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, CARACTERIZADOS PORQUE las regiones del marco de trabajo de dicha cadena pesada comprenden un gen IGHV1-46*03 de la línea germinal humana y las regiones del marco de trabajo de dicha cadena liviana comprenden un gen IGKV1D-39*01 de la línea germinal humana.

23. El anticuerpo monoclonal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9 y 18-22, CARACTERIZADO PORQUE dicho anticuerpo comprende un dominio constante de la IgG1, la IgG2, la IgG3 o la IgG4 humana.

24. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE su cadena pesada comprende un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 39, 41 y 43.

25. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE su cadena liviana comprende un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º

40, 42 y 44.

26. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 24 o 25, CARACTERIZADOS PORQUE dicha cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 39, 41 y 43 y dicha cadena liviana comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 40, 42 y 44.

27. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 26, CARACTERIZADO PORQUE dicha cadena pesada y dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

    a) SEQ ID N.º 39 y 40;

    b) SEQ ID N.º 41 y 42; y

    c) SEQ ID N.º 43 y 44.

28. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE dicho anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende SEQ ID N.º 39 y una cadena liviana que comprende SEQ ID N.º 40.

29. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 24-28, CARACTERIZADOS PORQUE dicho anticuerpo es un anticuerpo quimérico.

30. La porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9, 18-22 y 24-28, CARACTERIZADA PORQUE dicha porción es un anticuerpo de cadena simple, un fragmento Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$ o Fd, un fragmento Fv de cadena simple (scFv), un dímero

biespecífico de fragmentos Fv de cadena simple, un multímero polivalente de fragmentos Fv de cadena simple, un diacuerpo, un anticuerpo del que se ha eliminado un dominio o un anticuerpo con un solo dominio (dAb).

31. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-30, CARACTERIZADOS PORQUE dicho anticuerpo, o una porción de unión al antígeno de este, presenta una o más de las siguientes propiedades:

a) no se une a CCL16 humano;

b) se une a CCL20 de mono cangrejero o de macaco Rhesus, pero no a CCL20 de ratón o de rata;

c) presenta una afinidad de unión por CCL20 humano de 70 pM o menos cuando se la determina usando un ensayo de resonancia de plasmón superficial monovalente;

d) presenta una afinidad de unión por CCL20 humano de 12 pM o menos cuando se la determina usando un ensayo de resonancia de plasmón superficial bivalente;

e) presenta una afinidad de unión por CCL20 humano que es mayor que la afinidad que presenta por CCR6 humano;

f) presenta selectividad por CCL20 humano, en comparación con las quimioquinas humanas CX3CL1, CXCL1, CXCL2, CXCL4, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL12, CXCL13, CXCL16, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL11, CCL13, CCL16, CCL17, CCL19, CCL21, CCL22, CCL24, CCL25, CCL27, CCL28 o XCL1;

g) reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano en las células CCR6+ con una IC_{50} de 1,7 nM o menos;

h) reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano en las células CCR6+ *in vivo*;

i) reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano en las células CCR6+*in vitro*;

j) reduce el progreso de los síntomas de la artritis en un sujeto;

k) reduce la osteoporosis, la erosión de los huesos o la formación de huesos nuevos en un sujeto;

l) reduce los niveles de la proteína oligomérica de la matriz del cartílago (COMP) en el suero de un sujeto;

m) reduce los niveles del ARNm de RANKL, de RANK, de TRAP de la catepsina K en un sujeto;

n) reduce los síntomas de la dermatitis atópica en un sujeto; y

o) reduce los síntomas de la dermatitis de contacto alérgica en un sujeto.

32. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE se une a un epitope de CCL20 humano que comprende una o más secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en

a) los residuos 7-9 de SEQ ID N.º 84;

b) los residuos 10-19 de SEQ ID N.º 84; y

c) los residuos 20-22 de SEQ ID N.º 84.

33. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 32, CARACTERIZADOS PORQUE el epitope

comprende los residuos 7-9, 10-19 y 20-22 de SEQ ID N.º 84.

34. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 32, CARACTERIZADOS PORQUE el epitope también comprende una o más secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en

    a) los residuos 39-55 de SEQ ID N.º 84;

    b) los residuos 56-67 de SEQ ID N.º 84; y

    c) los residuos 61-70 de SEQ ID N.º 84.

35. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 34, CARACTERIZADOS PORQUE el epitope comprende los residuos 7-9, 10-19, 20-22, 39-55, 56-67 y 61-70 de SEQ ID N.º 84.

36. Una molécula de ácido nucleico aislada CARACTERIZADA PORQUE codifica la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35.

37. Una molécula de ácido nucleico aislada CARACTERIZADA PORQUE codifica la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35.

38. Una molécula de ácido nucleico aislada CARACTERIZADA PORQUE codifica la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, y la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35.

39. Una molécula de ácido nucleico aislada CARACTERIZADA PORQUE codifica la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, donde dicha molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 17-22, 25-30 y 109, donde opcionalmente, la secuencia de nucleótidos puede carecer de la porción que codifica la secuencia señal.

40. Una molécula de ácido nucleico aislada CARACTERIZADA PORQUE codifica la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, donde dicha molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 23, 24, 31, 32, 111 y 113, donde opcionalmente, la secuencia de nucleótidos puede carecer de la porción que codifica la secuencia señal.

41. La molécula de ácido nucleico aislada de acuerdo con la reivindicación 39 o 40, CARACTERIZADA PORQUE dicha molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 17-22, 25-30 y 109 o comprende una secuencia de nucleótidos como las mencionadas, pero sin la porción que codifica la secuencia señal, y donde dicha molécula de ácido nucleico también comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 23, 24, 31, 32 111 y 113 o comprende una secuencia de nucleótidos como las mencionadas, pero sin la porción que codifica la secuencia señal.

42. Uso (1) de una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena

pesada o una porción de unión al antígeno de esta, (2) de una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena liviana o una porción de unión al antígeno de esta o (3) de una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada y una cadena liviana, o porciones de unión al antígeno de estas, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana provienen de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35, CARACTERIZADO PORQUE es como medicamento.

43. Un vector recombinante CARACTERIZADO PORQUE comprende (1) una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, (2) una secuencia de ácido nucleico que codifica, una cadena liviana o una porción de unión al antígeno de esta, o (3) una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada y una cadena liviana, o porciones de unión al antígeno de estas, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana provienen de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35.

44. Una célula huésped CARACTERIZADA PORQUE comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35, donde dicha primera secuencia de ácido nucleico está unida operativamente a un elemento para controlar la expresión, y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de dicho anticuerpo o de dicha porción, donde dicha

segunda secuencia de ácido nucleico está unida operativamente a un elemento para controlar la expresión.

45. Un método para elaborar un anticuerpo anti-CCL20 humano o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE comprende mantener una célula huésped de acuerdo con la reivindicación 44 bajo condiciones apropiadas para expresar el anticuerpo o una porción de este.

46. El método de acuerdo con la reivindicación 45, CARACTERIZADO PORQUE también comprende aislar el anticuerpo o una porción de este.

47. Una composición CARACTERIZADA PORQUE comprende un anticuerpo monoclonal o una porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 y un vehículo o un transporte farmacéuticamente aceptable.

48. Un método para tratar un sujeto que lo necesita, CARACTERIZADO PORQUE comprende administrarle al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o de una composición de acuerdo con la reivindicación 47.

49. Un método para tratar una afección en un sujeto que lo necesita, CARACTERIZADO PORQUE comprende administrarle al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o de una composición de acuerdo con la reivindicación 47.

50. El método de acuerdo con la reivindicación 49, CARACTERIZADO PORQUE dicha afección es una afección asociada a CCR6.

51. El método de acuerdo con la reivindicación 49, CARACTERIZADO PORQUE dicha afección es una afección autoinmune o inflamatoria.

52. El método de acuerdo con la reivindicación 49, CARACTERIZADO PORQUE dicha afección es la artritis reumática, la psoriasis, la dermatitis atópica, la dermatitis de contacto, la enfermedad de Crohn, la enfermedad intestinal inflamatoria, la enfermedad de Graves, el vitíligo, el hipertiroidismo, la hepatitis crónica, una infección de papilomavirus humanos en el cuello uterino, una micosis fungoide, la osteoporosis o la enfermedad periodontal.

53. Un método para tratar un cáncer, CARACTERIZADO PORQUE comprende administrarle a un sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o de una composición de acuerdo con la reivindicación 47.

54. El método de acuerdo con la reivindicación 53, CARACTERIZADO PORQUE dicho cáncer es una afección maligna de las células B, un adenocarcinoma de mama, un glioblastoma, un carcinoma hepatocelular, un adenocarcinoma pancreático o un carcinoma papilar en la tiroides.

55. Un método para reducir la quimiotaxis mediada por CCL20 de las células CCR6+ en un sujeto que lo necesita, CARACTERIZADO PORQUE comprende administrarle al sujeto un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o una composición de acuerdo con la reivindicación 47.

56. Un método para reducir la quimiotaxis mediada por CCL20 en células

CCR6+ *in vitro*, CARACTERIZADO PORQUE comprende usar un anticuerpo o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o una composición de acuerdo con la reivindicación 47.

57. Un método para tratar una afección en un sujeto, CARACTERIZADO PORQUE comprende administrarle al sujeto un anticuerpo o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o una composición de acuerdo con la reivindicación 47, donde dicha afección se selecciona del grupo que consiste en

a) las articulaciones distales de las extremidades, tales como el codo o la rodilla;

b) el eritema;

c) la hinchazón;

d) los niveles incrementados de la proteína oligomérica de la matriz del cartílago (COMP) en el suero;

e) los niveles incrementados del ARNm del receptor del activador del factor nuclear inductor de los oesteoclastos κB (RANKL), del receptor del activador del factor nuclear κB (RANK), de la fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP) o de la catepsina K;

f) la dermatitis atópica; y

g) la dermatitis de contacto alérgica.

58. Uso de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o de una composición de acuerdo con la reivindicación 47, CARACTERIZADO PORQUE es en la manufactura de un medicamento.

59. Uso de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o de una composición de acuerdo con la reivindicación 47, CARACTERIZADO PORQUE es como medicamento.

ANTICUERPOS NEUTRALIZADORES ANTI-CCL20

RESUMEN

Nuevos anticuerpos humanizados, quiméricos y murinos que presentan especificidad de unión por el ligando de la quimioquina humana CC 20 (CCL20). Cadenas pesadas y cadenas livianas de dichos anticuerpos. Ácidos nucleicos aislados, vectores recombinantes y células huésped que comprenden una secuencia que codifica una cadena pesada y/o una cadena liviana de dichos anticuerpos. Método para preparar dichos anticuerpos. Los anticuerpos anti-CCL20 de la invención pueden usarse en aplicaciones terapéuticas, por ejemplo, para tratar los trastornos inflamatorios y autoinmunes y el cáncer.

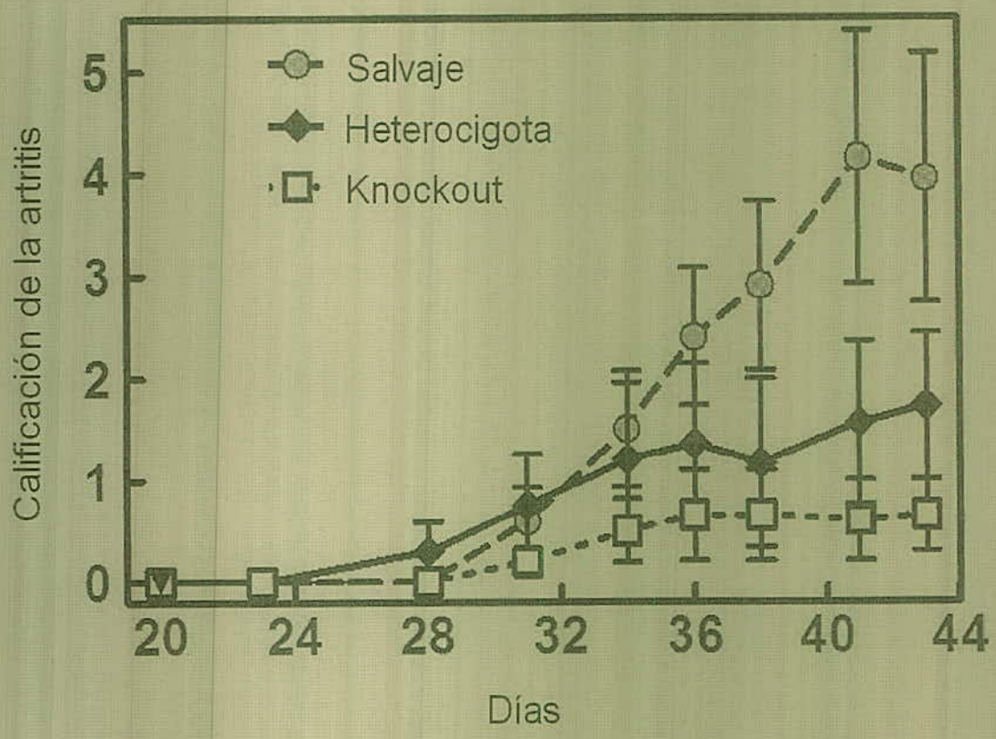

Salvaje
Heterocigota
Knockout
Calificación de la artritis
0
1
2
3
4
5
20
24
28
32
36
40
44
Días

FIG. 1

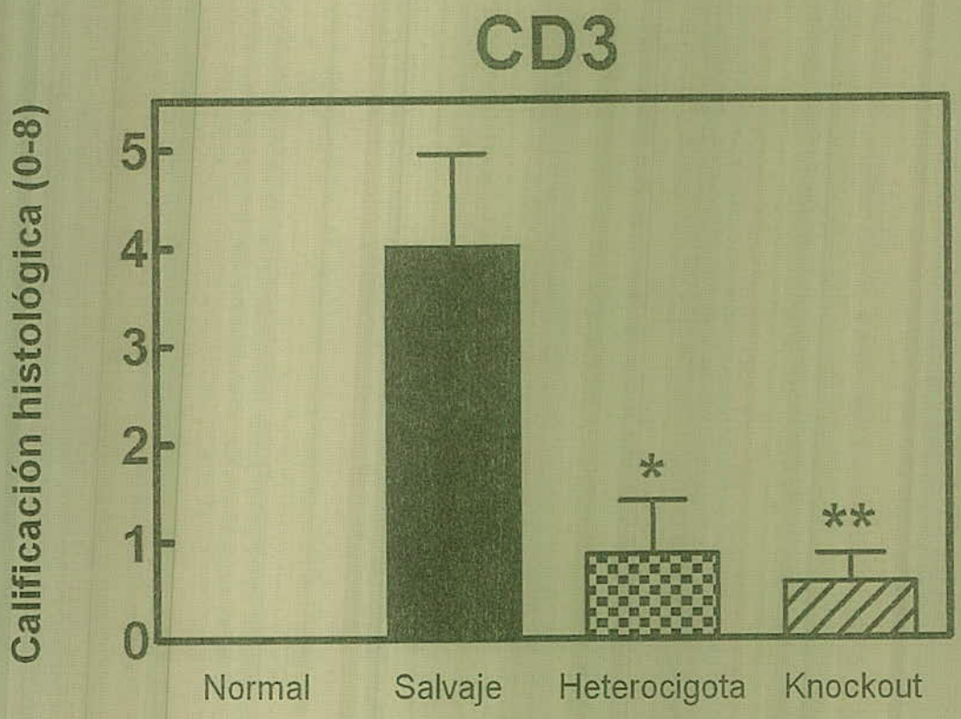

CD3
Calificación histológica (0-8)
5
4
3
2
1
0
*
**
Normal
Salvaje
Heterocigota
Knockout

FIG. 2

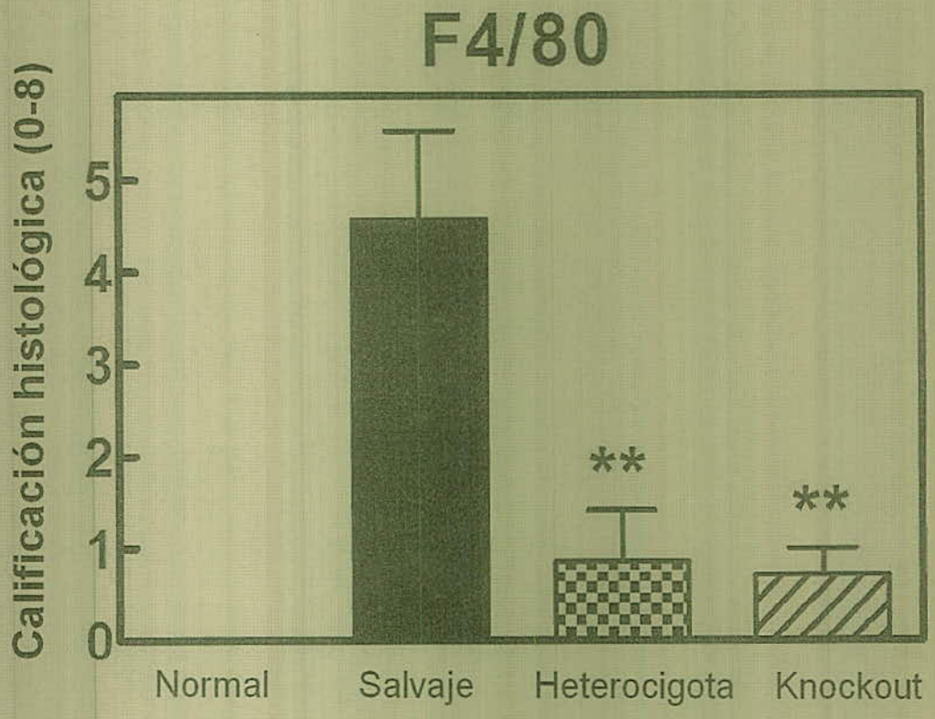

F4/80
Calificación histológica (0-8)
0
1
2
3
4
5
**
**
Normal
Salvaje
Heterocigota
Knockout

FIG. 3

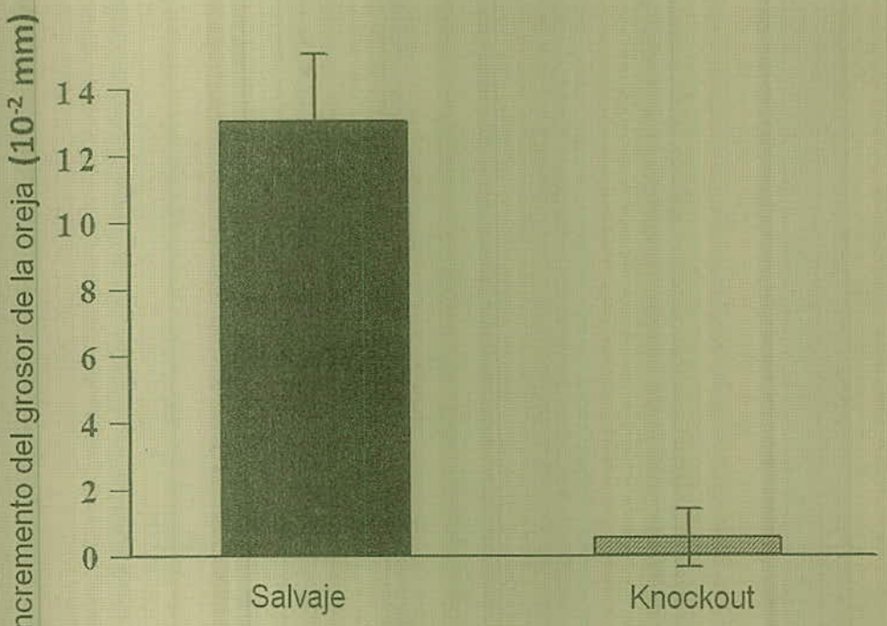

Incremento del grosor de la oreja (10^{-2} mm)
14
12
10
8
6
4
2
0
Salvaje
Knockout

FIG. 4

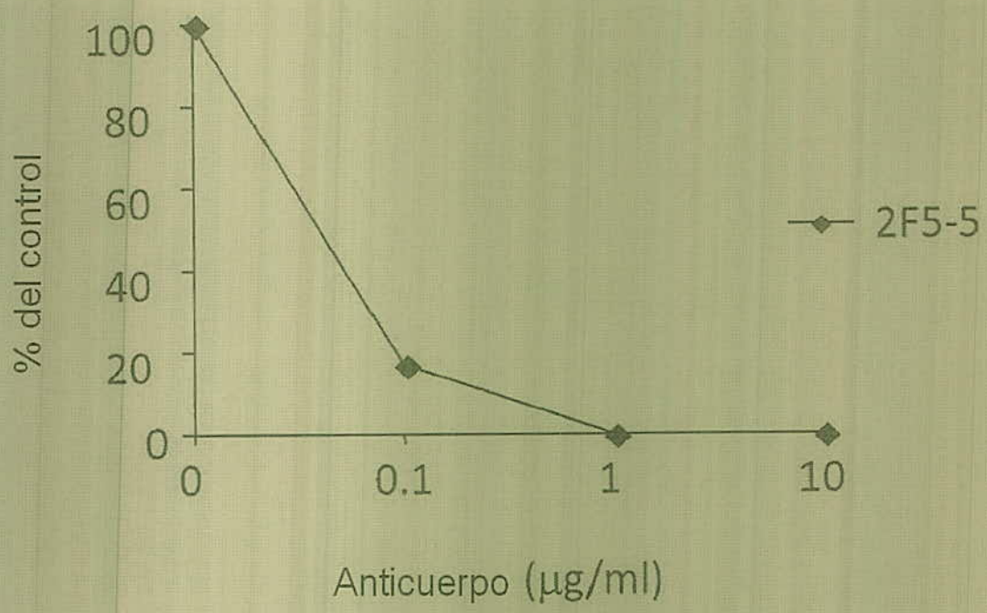


FIG. 5

Cadena pesada_36

Definición de Rabat		<------------FWR1------------>	<CDR1>	<----FWR2---->	<------CDR2----->	<---	
Definición de Chotia		<-CDR1-->			<--CDR2-->		
Anticuerpo 36F7C10 de ratón	1	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFT	NYWMH	WVKQRPGQGLEWIG	VIDPSDSYTTYNQKFKG	KATL	70
HC2	1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	NYWMH	WVRQAPGQGLEWMG	VIDPSDSYTTYAQKFQG	RVTM	70
HC3	1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	NYWMH	WVKQAPGQGLEWIG	VIDPSDSYTTYNQKFKG	KATM	70
36HKK3	1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	NYWMH	WVRQAPGQGLEWMG	VIDPSDSYTTYNQKFKG	KATL	70
ABM67212	1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	SYYMH	WVRQAPGQGLEWMG	IINPSGGSTSYAQKFQG	RVTM	70
IGHV1-46*03	1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	SYYMH	WVRQAPGQGLEWMG	IINPSGGSTSYAQKFQG	RVTM	70

Definición de Rabat		-----------FWR3------------>	<--CDR3--->	<---FWR4-->	
Definición de Chotia			<--CDR3--->		
Anticuerpo 36F7C10 de ratón	71	TVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTR	GNYGVDYAMDY	WGQGTSVTVSS	120
HC2	71	TVDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR	GNYGVDYAMDY	WGQGTLVTVSS	120
HC3	71	TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTR	GNYGVDYAMDY	WGQGTSVTVSS	120
36HKK3	71	TVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR	GNYGVDYAMDY	WGQGTLVTVSS	120
ABM67212	71	TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR	EGDGYIQAFDY	WGQGTLVTVSS	120
IGHV1-46*03	71	TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR			98
JH4	1		YFDY	WGQGTLVTVSS	15

En negrita se representan los residuos que difieren entre los anticuerpos de ratón y humanos

Las CDR injertadas se representan subrayadas

En cursiva y en negrita se representan los residuos que han sido sustituidos por residuos de ratón

FIG. 6A

	Cadena pesada_42									
	Definición de Rabat	<----------FWR1---------->	<CDR1>	<----FWR2---->	<------CDR2----->	<---				
	Definición de Chotia		<-CDR1-->		<--CDR2-->					
Anticuerpo	42G5B10 de ratón	1	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFT	SYWMH	WVKQRPGQGLEWIG	LIDPSDKYTNYNQKFKG	KATL	70		
	42HKK1	1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	SYWMH	WVRQAPGQGLEWMG	LIDPSDKYTNYNQKFKG	RVTM	70		
	42HKK2	1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	SYWMH	WVRQAPGQGLEWMG	LIDPSDKYTNYNQKFKG	RVTL	70		
	42HKK3	1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	SYWMH	WVRQAPGQGLEWMG	LIDPSDKYTNYNQKFKG	KATL	70		
	ABM67212	1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	SYYMH	WVRQAPGQGLEWMG	IINPSGGSTSYAQKFQG	RVTM	70		
	IGHV1-46*03	1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	SYYMH	WVRQAPGQGLEWMG	IINPSGGSTSYAQKFQG	RVTM	70		

	Definición de Rabat	----------FWR3---------->	<--CDR3--->	<---FWR4-->						
	Definición de Chotia		<--CDR3--->							
Anticuerpo	42G5B10 de ratón	71	TVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTR	GNYGVDYGMDY	WGQGTSVTVSS	120				
	42HKK1	71	TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR	GNYGVDYGMDY	WGQGTLVTVSS	120				
	42HKK2	71	TVDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTR	GNYGVDYGMDY	WGQGTLVTVSS	120				
	42HKK3	71	TVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR	GNYGVDYGMDY	WGQGTLVTVSS	120				
	ABM67212	71	TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR	EGDGYIQAFDY	WGQGTLVTVSS	120				
	IGHV1-46*03	71	TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR			98				
	JH4	1		YFDY	WGQGTLVTVSS	15				

En negrita se representan los residuos que difieren entre los anticuerpos de ratón y humanos

Las CDR injertadas se representan subrayadas

En cursiva y en negrita se representan los residuos que han sido sustituidos por residuos de ratón

FIG. 6B

Cadena liviana Definición de Rabat		<---------FWR1-------->	<---CDR1-->	<------FWR2--->	<-CDR2>	<----------	
Definición de Chotia			<---CDR1-->		<-CDR2>		
Anticuerpo 36F7C10 de ratón	1	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC	GASENIYGALN	WYQRKQGKSPQLLIY	GATNLAD	GMSSRFSGSGSGRQ	70
LC3	1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	RASENIYGALN	WYQQKPGKAPKLLIY	GATNLAD	GVPSRFSGSGSGRQ	70
LK3	1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	GASENIYGALN	WYQRKPGKAPKLLIY	GATNLAD	GVPSRFSGSGSGRD	70
BAH04867.1	1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	RASQSISSYLN	WYQQKPGKAPKLLIY	AASSLQS	GVPSRFSGSGSGTD	70
IGKV1D-39*01	1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	RASQSISSYLN	WYQQKPGKAPKLLIY	AASSLQS	GVPSRFSGSGSGTD	70

Definición de Rabat	-FWR3------------>	<-CDR3-->	<--FWR4--->		
Definición de Chotia		<-CDR3-->			
Anticuerpo 36F7C10 de ratón	71	YSLKISSLRPDDVATYYC	QNVLITPYT	FGGGTKLEIK	107
LC3	71	YSLTISSLQPEDFATYYC	QNVLITPYT	FGGGTKLEIK	107
LK3	71	YTLTISSLQPEDFATYYC	QNVLITPYT	FGQGTKLEIK	107
BAH04867.1	71	FTLTISSLQPEDFATYYC	QQSYSTPYT	FGQGTKLEIK	107
IGKV1D-39*01	71	FTLTISSLQPEDFATYYC	QQSYSTPP		96

En negrita se representan los residuos que difieren entre los anticuerpos de ratón y humanos
Las CDR injertadas se representan subrayadas
En cursiva y en negrita se representan los residuos que han sido sustituidos por residuos de ratón
En cursiva y subrayados se representan los residuos que han sido sustituidos por residuos humanos

FIG. 6C

IC50 (nM, media ± desviación estándar)				
OR: fuera de rango				
Si no se provee un valor para la desviación estándar, esto representa que se realizó un solo ensayo				
		Cadena pesada		
		36HCM1	40HCM1	42HCM1
Cadena liviana	36LM1	3.297±2.303	15.483±12.423	1.903±0.707
	40LM1	OR	3.423±0.975	8.580±1.858
	42LM1	OR	OR	3.297±1.330
		Cadena pesada		
		36HKK1	36HKK2	36HKK3
Cadena liviana	36LK1	1.870±0.281	1.323±0.258	0.987±0.219
	36LK2	2.513±0.828	1.220±0.474	1.107±0.474
	36LK3	1.240±0.192	1.233±0.075	1.313±0.245
		Cadena pesada		
		42HKK1	42HKK2	42HKK3
Cadena liviana	42LK1	13.51	18.22	18.97
	42LK2	9.72	13.35	13.6
	42LK3	2.38	1.99	3.09
		Cadena pesada		
		42HKK1	42HKK2	42HKK3
Cadena liviana	36LK1	1.39	2.62	1.86
	36LK2	1.33	1.08	1.59
	36LK3	1.357±0.250	1.663±0.475	1.467±0.160
		Cadena pesada		
		36HKK3	36HC2	36HC3
Cadena liviana	36LK3	1.210±0.306	1.014±0.330	1.128±0.041
	36LC3	1.265±0.266	1.117±0.193	1.327±0.346

FIG. 7A

IC90 (nM, media ± desviación estándar)				
OR: fuera de rango				
		Cadena pesada		
		36HCM1	40HCM1	42HCM1
Cadena liviana	36LM1	OR	OR	28.173±18.382
	40LM1	OR	OR	OR
	42LM1	OR	OR	OR
		Cadena pesada		
		36HKK1	36HKK2	36HKK3
Cadena liviana	36LK1	34.300±12.049	21.040±12.576	6.957±1.059
	36LK2	OR	OR	16.360±4.492
	36LK3	8.75±1.121	5.613±0.882	4.130±1.769
		Cadena pesada		
		42HKK1	42HKK2	42HKK3
Cadena liviana	42LK1	OR	OR	OR
	42LK2	OR	OR	OR
	42LK3	40.74	53.08	OR
		Cadena pesada		
		42HKK1	42HKK2	42HKK3
Cadena liviana	36LK1	8.74	44.04	15.99
	36LK2	14.31	25.33	18.65
	36LK3	4.857±0.403	6.540±2.040	5.647±1.107
		Cadena pesada		
		36HKK3	36HC2	36HC3
Cadena liviana	36LK3	4.376±0.651	4.564±1.928	4.603±1.521
	36LC3	4.327±0.816	5.251±0.591	6.339±0.614

FIG. 7B

IC95 (nM, media ± desviación estándar)				
OR: fuera de rango				
		Cadena pesada		
		36HCM1	40HCM1	42HCM1
Cadena liviana	36LM1	OR	OR	OR
	40LM1	OR	OR	OR
	42LM1	OR	OR	OR
		Cadena pesada		
		36HKK1	36HKK2	36HKK3
Cadena liviana	36LK1	OR	OR	OR
	36LK2	OR	OR	OR
	36LK3	OR	OR	7.587±3.511
		Cadena pesada		
		42HKK1	42HKK2	42HKK3
Cadena liviana	42LK1	OR	OR	OR
	42LK2	OR	OR	OR
	42LK3	OR	OR	OR
		Cadena pesada		
		42HKK1	42HKK2	42HKK3
Cadena liviana	36LK1	OR	OR	OR
	36LK2	32.31	54.83	60.93
	36LK3	9.020±0.762	15.337±9.599	10.780±3.938
		Cadena pesada		
		36HKK3	36HC2	36HC3
Cadena liviana	36LK3	6.886±1.274	8.972±4.417	8.381±4.053
	36LC3	9.747±3.758	(11.77, >66.7, 10.33)	OR

FIG. 7C

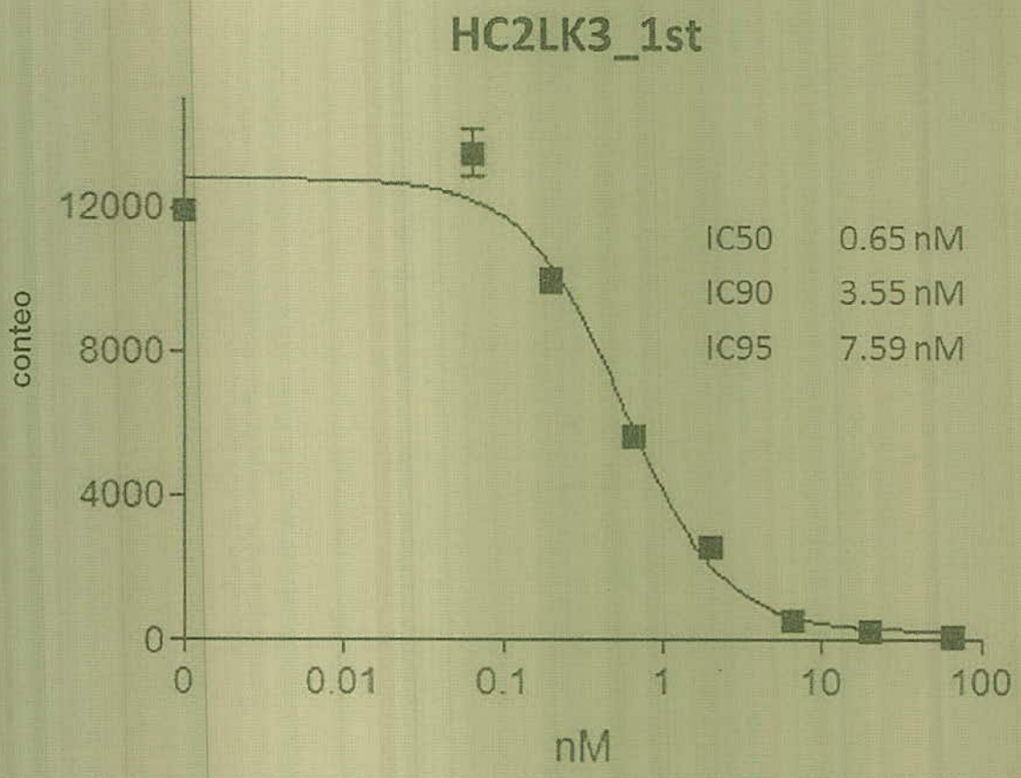

HC2LK3_1st
conteo
12000
8000
4000
0
0
0.01
0.1
1
10
100
nM
IC50 0.65 nM
IC90 3.55 nM
IC95 7.59 nM

FIG. 8A

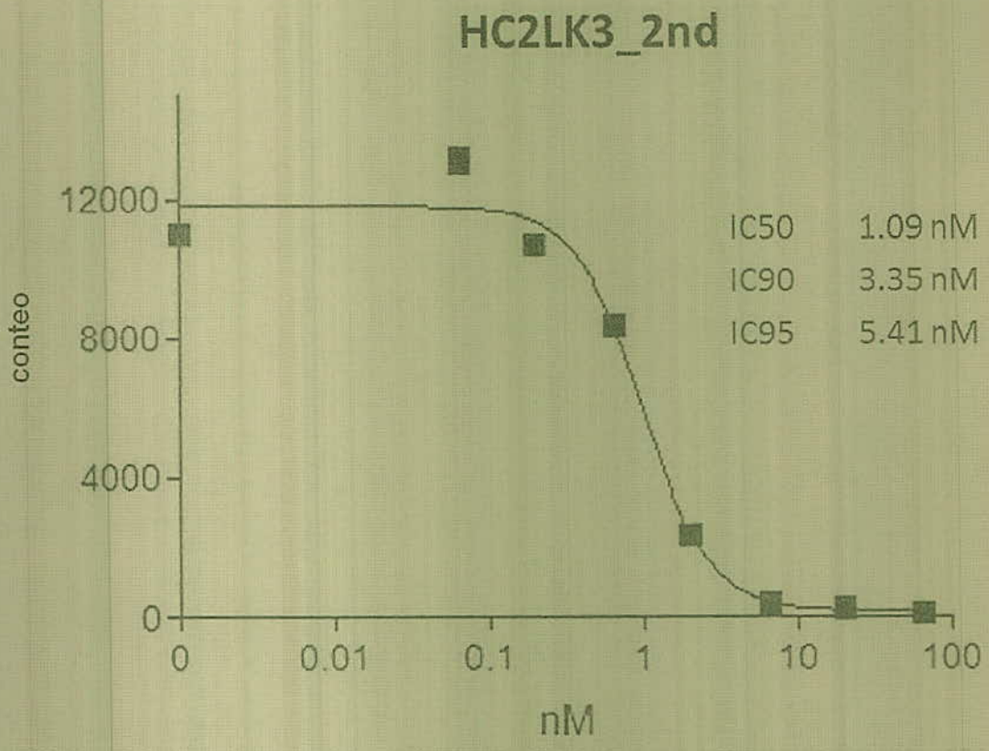

HC2LK3_2nd
conteo
12000
8000
4000
0
0
0.01
0.1
1
10
100
nM
IC50 1.09 nM
IC90 3.35 nM
IC95 5.41 nM

FIG. 8B

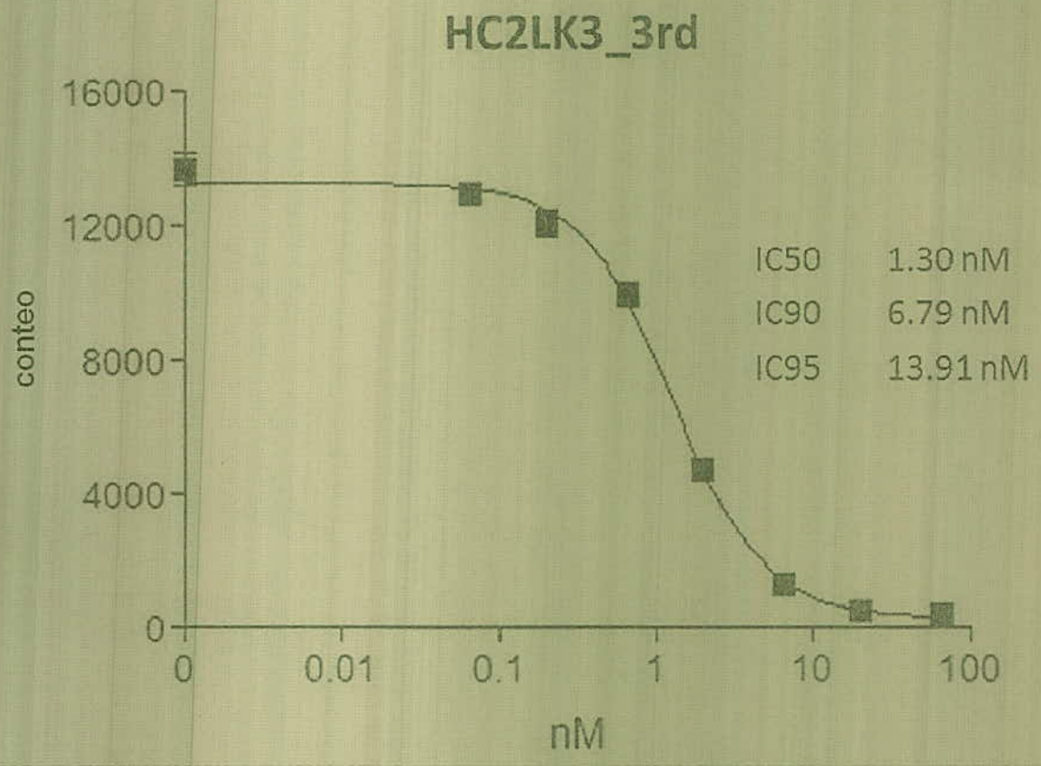

HC2LK3_3rd
16000
12000
8000
4000
0
conteo
0
0.01
0.1
1
10
100
nM
IC50 1.30 nM
IC90 6.79 nM
IC95 13.91 nM

FIG. 8C

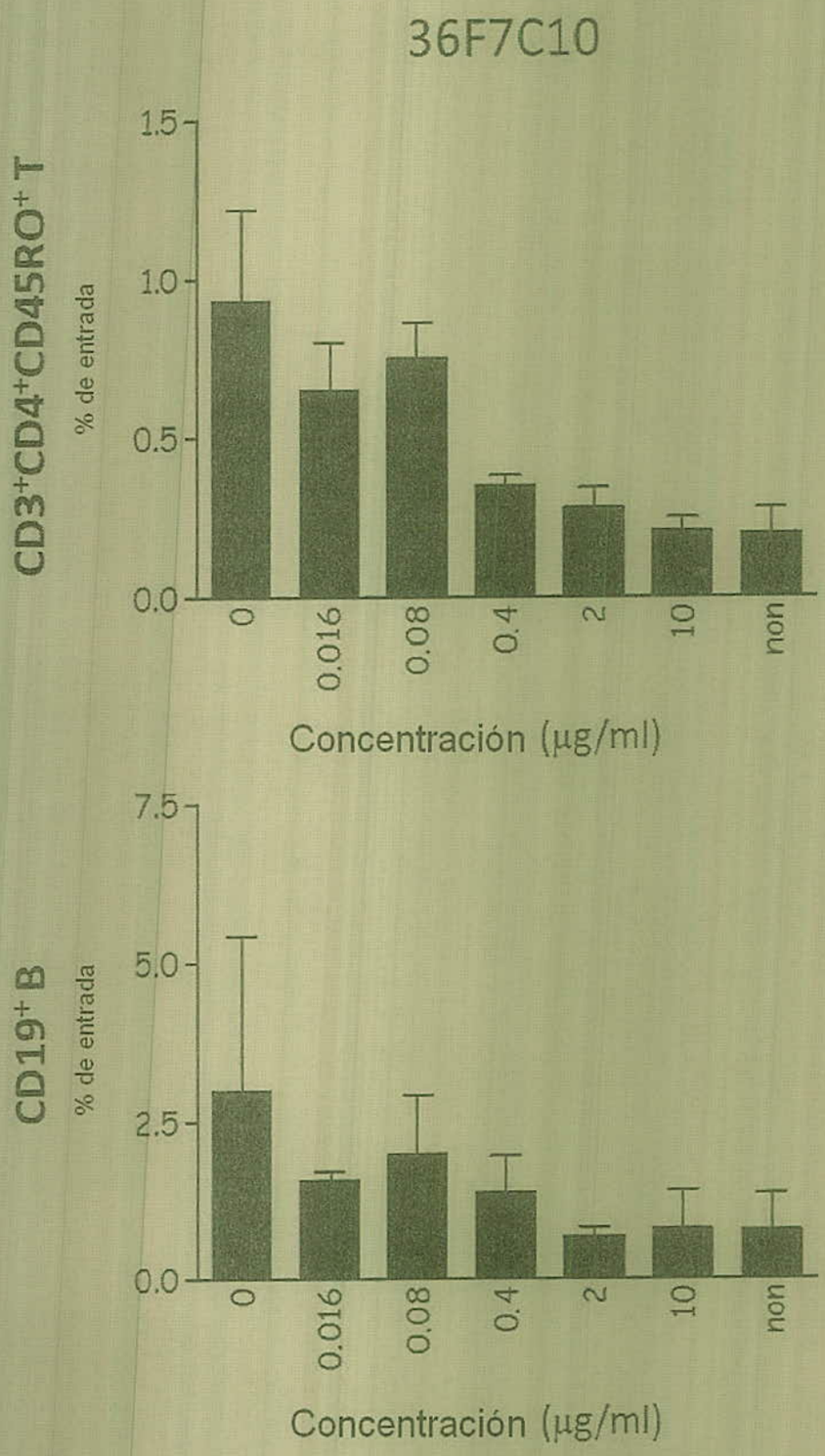

36F7C10
CD3+CD4+CD45RO+ T
% de entrada
1.5
1.0
0.5
0.0
0
0.016
0.08
0.4
2
10
non
Concentración (µg/ml)
CD19+ B
% de entrada
7.5
5.0
2.5
0.0
0
0.016
0.08
0.4
2
10
non
Concentración (µg/ml)

FIG. 9A

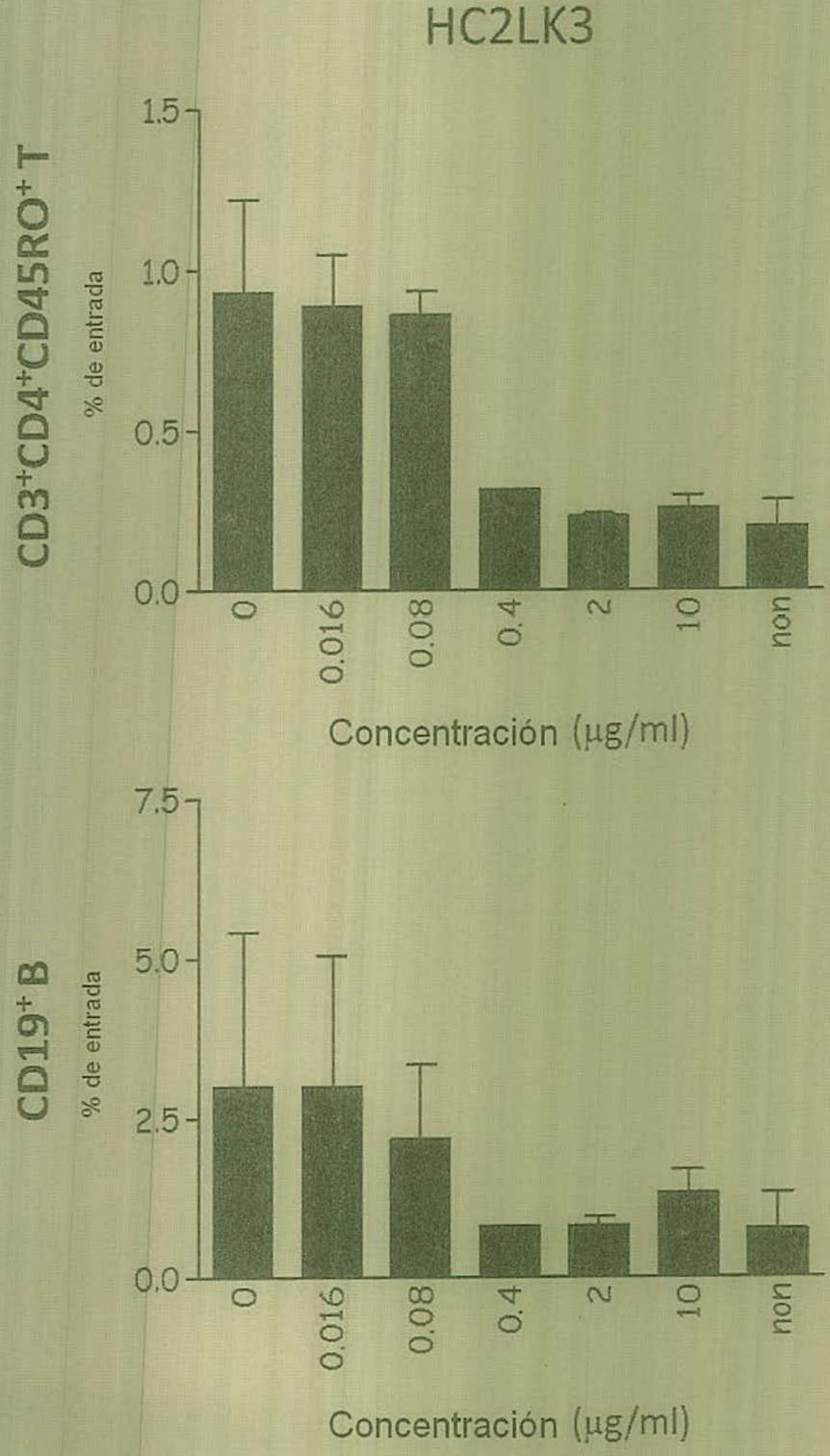

HC2LK3
CD3+CD4+CD45RO+ T
% de entrada
1.5
1.0
0.5
0.0
0
0.016
0.08
0.4
2
10
non
Concentración (µg/ml)
CD19+ B
% de entrada
7.5
5.0
2.5
0.0
0
0.016
0.08
0.4
2
10
non
Concentración (µg/ml)

FIG. 9B

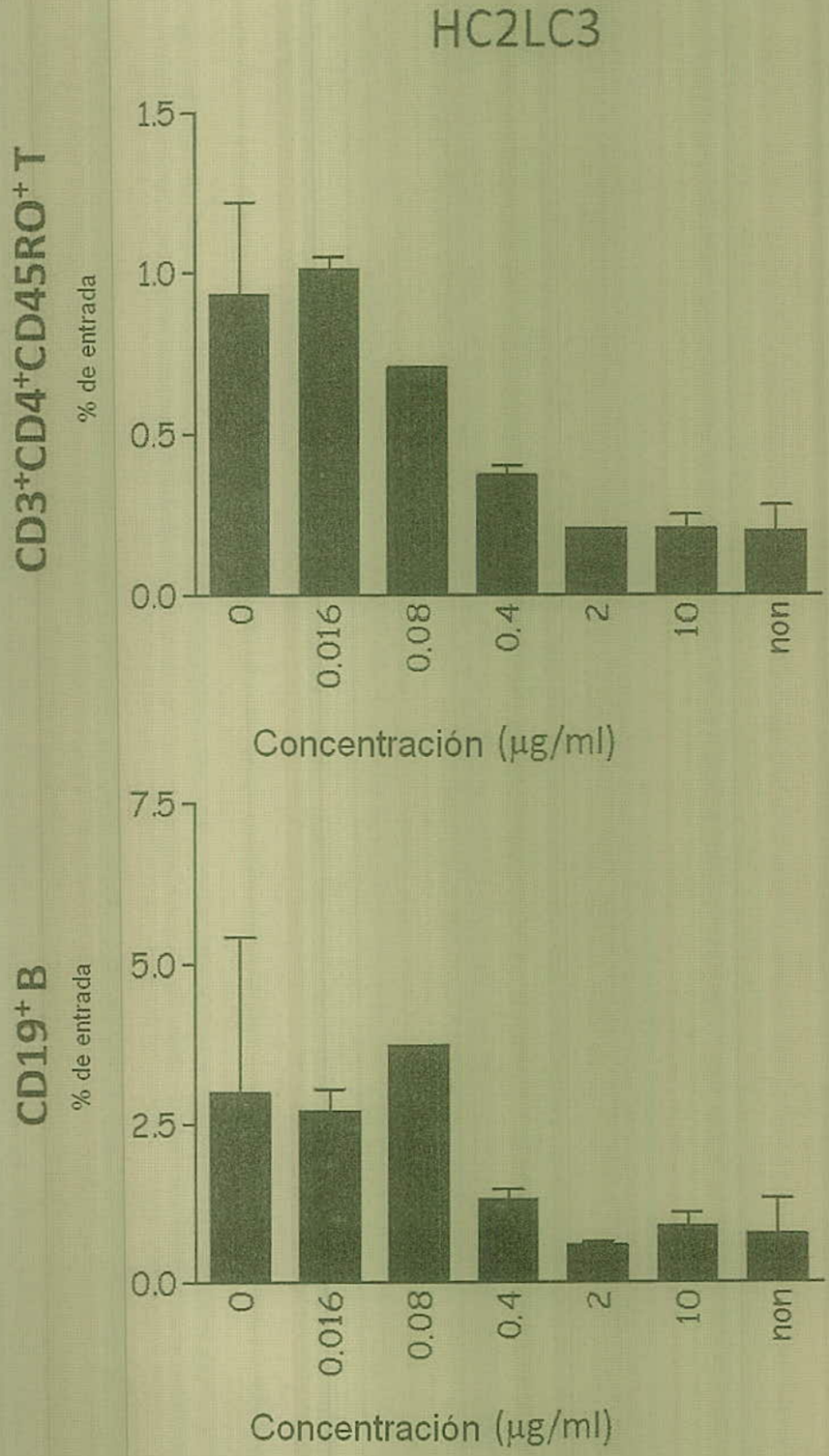

HC2LC3
CD3+CD4+CD45RO+ T
% de entrada
1.5
1.0
0.5
0.0
0
0.016
0.08
0.4
2
10
non
Concentración (µg/ml)
CD19+ B
% de entrada
7.5
5.0
2.5
0.0
0
0.016
0.08
0.4
2
10
non
Concentración (µg/ml)

FIG. 9C

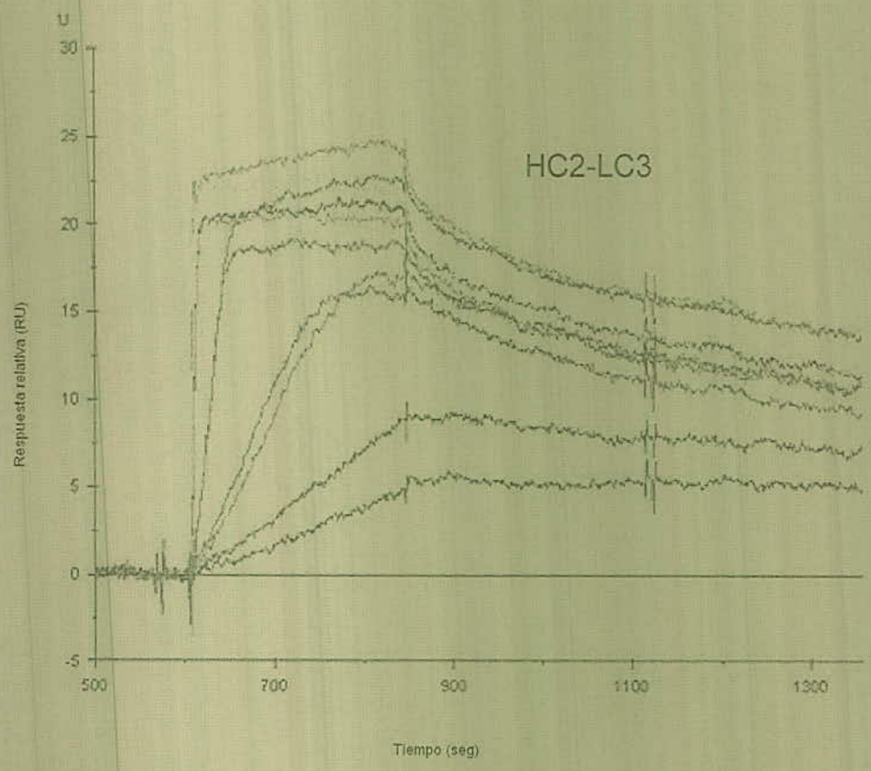

U
30
25
20
15
10
5
0
-5
HC2-LC3
Respuesta relativa (RU)
500
700
900
1100
1300
Tiempo (seg)

FIG. 10A

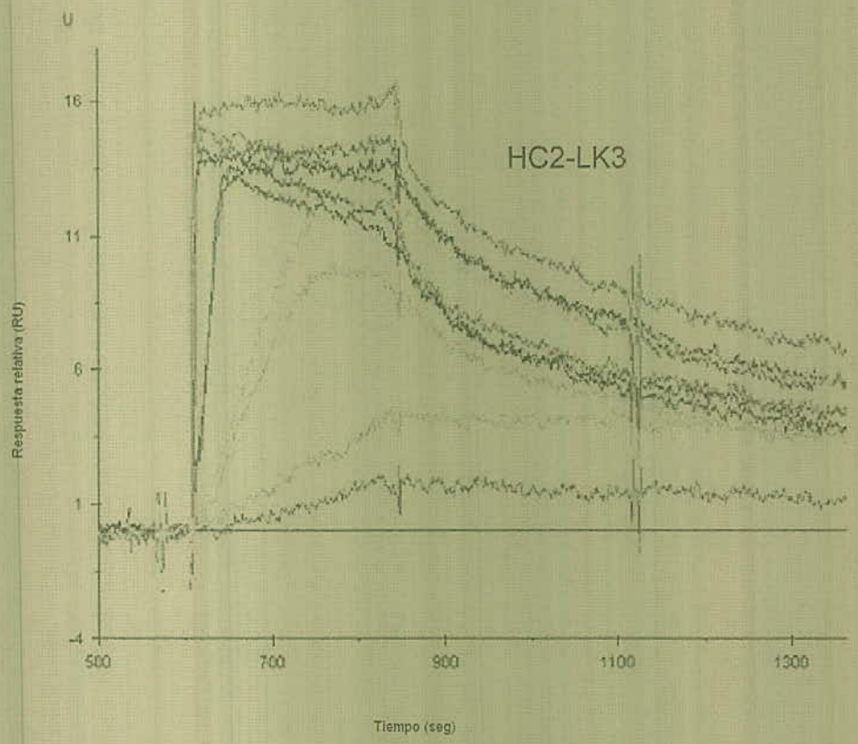
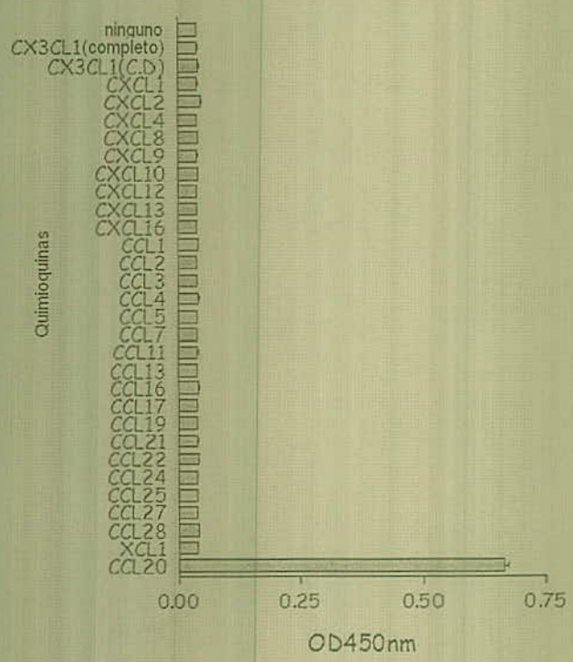

U
16
11
6
1
-4
HC2-LK3
Respuesta relativa (RU)
500
700
900
1100
1300
Tiempo (seg)

FIG. 10B

36F7C10



Quimera

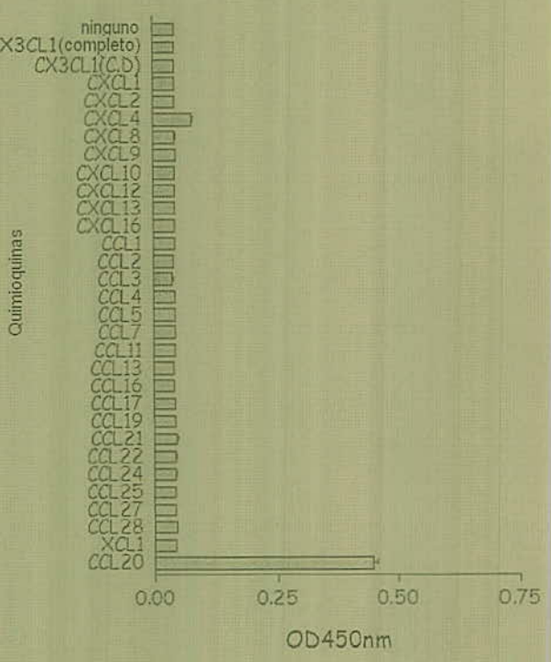
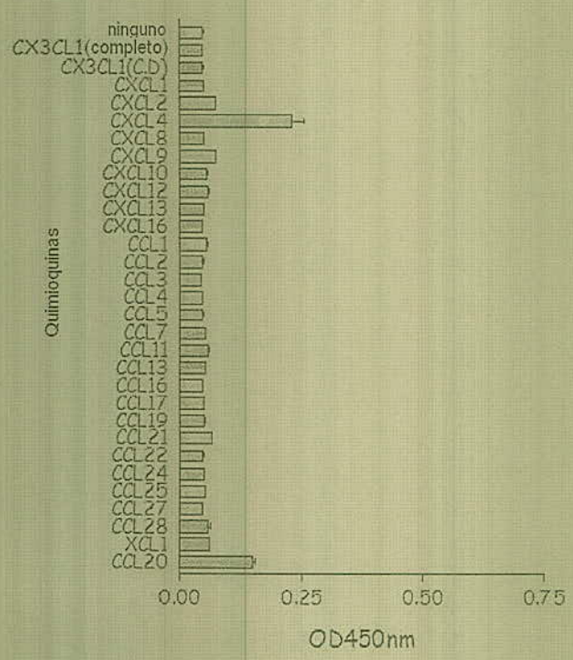


FIG. 11A

28781920_1

HC2LK3 humanizado



HC2LC3 humanizado

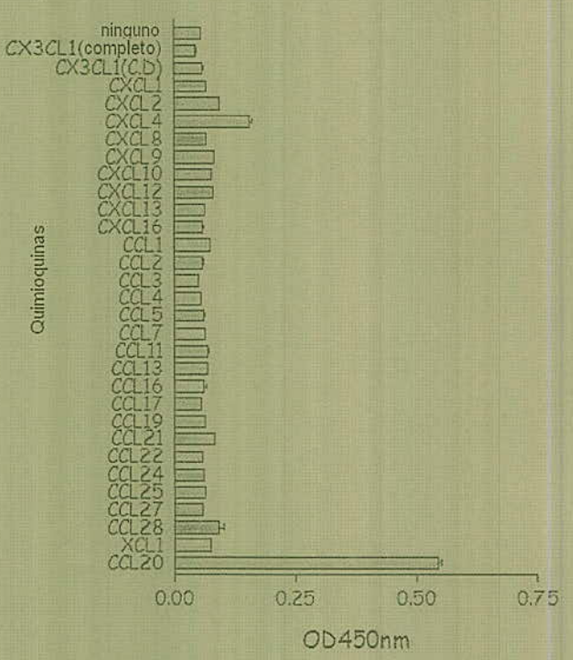
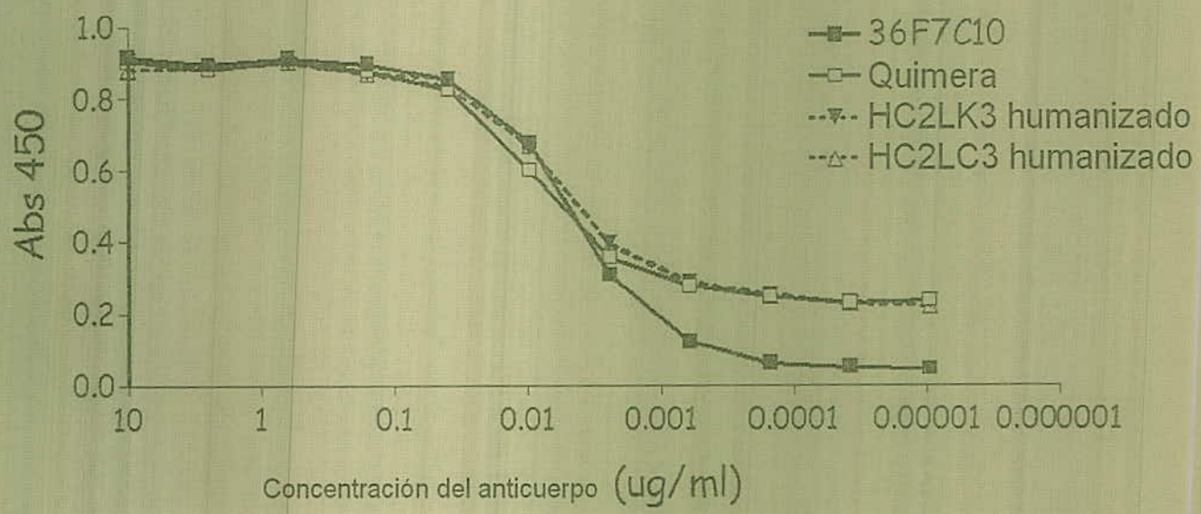


FIG. 11B


1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
Abs 450
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
0.00001
0.000001
Concentración del anticuerpo (ug/ml)
36F7C10
Quimera
HC2LK3 humanizado
HC2LC3 humanizado

28781920_1

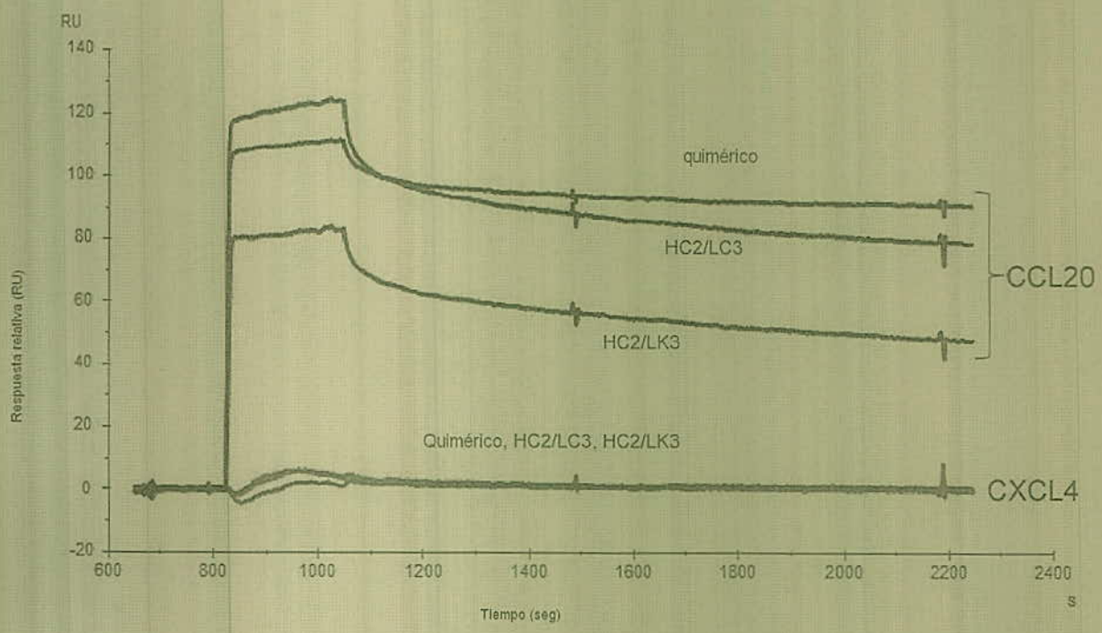

RU
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2000
2200
2400
s
Tiempo (seg)
Respuesta relativa (RU)
quimérico
HC2/LC3
HC2/LK3
CCL20
Quimérico, HC2/LC3, HC2/LK3
CXCL4

FIG. 11D

37,5% de identidad en una extensión de 56 residuos, con una calificación de 106,0 y una frecuencia de faltas de coincidencia de 5,4%

```
CCL16,        37 CCLKYYEKVLPRRLVVGYRKAL---NCHLPAIIFVTKRNREVCTNPNDDWVQEYIK
CCL20,        32 CCLGYTDRILHPKFIVGFTRQLANEGCDINAIIFHTKKKLSVCANPKQTWVKYIVR
                 *** *    *     **    *    *   **** **    ** **   **
```

FIG. 12

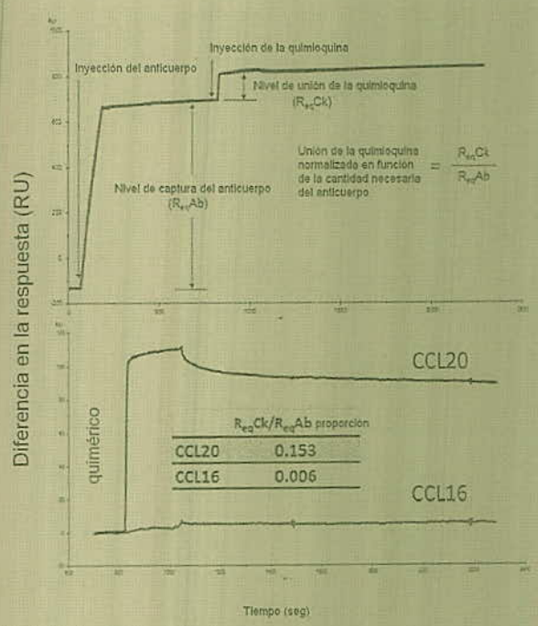

Diferencia en la respuesta (RU)
Inyección de la quimioquina
Inyección del anticuerpo
Nivel de unión de la quimioquina
(R_{eq}Ck)
Unión de la quimioquina normalizado en función de la cantidad necesaria del anticuerpo
$= \frac{R_{eq}Ck}{R_{eq}Ab}$
Nivel de captura del anticuerpo
(R_{eq}Ab)
quimérico
CCL20
$R_{eq}Ck/R_{eq}Ab$ proporción
CCL20 0.153
CCL16 0.006
CCL16
Tiempo (seg)

FIG. 13A

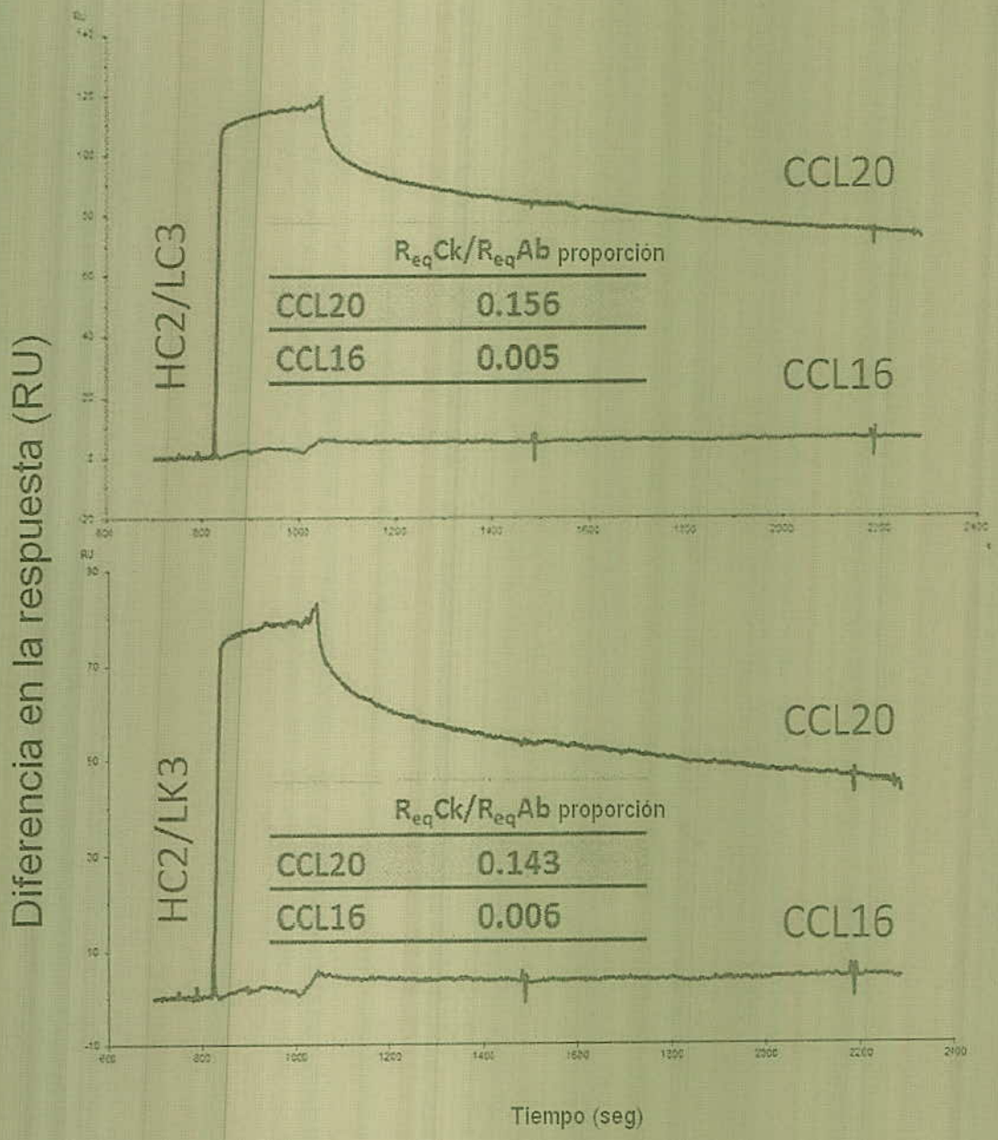

Diferencia en la respuesta (RU)
HC2/LC3
CCL20
R_{eq}Ck/R_{eq}Ab proporción
CCL20 0.156
CCL16 0.005
CCL16
HC2/LK3
CCL20
R_{eq}Ck/R_{eq}Ab proporción
CCL20 0.143
CCL16 0.006
CCL16
Tiempo (seg)

FIG. 13B

86,5% de identidad en una extensión de 96 residuos, con una calificación de 441,0 y una frecuencia de faltas de coincidencia de 0,0%

```
hum_CCL20        1 MCCTKSLLLAALMSVLLLHLCGESEAASNFDCCLGYTDRILHPKFIVGFTRQLANEGCDI
rhe_CCL20        1 MCCTKSLLLAALMSVLLLYLCSESEAASNFDCCLRYTDRILHPKFIVGFTQQLANETCDI
                   ****************** ** ************ *************** ***** ***

hum_CCL20       61 NAIIFHTKKKLSVCANPKQTWVKYIVRLLSKKVKNM
rhe_CCL20       61 NAVVFHTKKGLSVCANPKQTWVKLIVRRLSKKINKM
                   **  ***** ************* *** ****   *
```

97,9% de identidad en una extensión de 96 residuos, con una calificación de 497,0 y una frecuencia de faltas de coincidencia de 0,0%

```
rhe_CCL20        1 MCCTKSLLLAALMSVLLLYLCSESEAASNFDCCLRYTDRILHPKFIVGFTQQLANETCDI 60
cyn_CCL20        1 MCCSKSLLLAALMSVLLLYLCSESEAASNFDCCLRYTDRILHPKFIVGFTQQLANETCDI 60
                   *** ************************************************************

rhe_CCL20       61 NAVVFHTKKGLSVCANPKQTWVKLIVRRLSKKINKM 96
cyn_CCL20       61 NAVIFHTKKGLSVCANPKQTWVKLIVRRLSKKINKM 96
                   *** ********************************
```

64,2% de identidad en una extensión de 95 residuos, con una calificación de 310,0 y una frecuencia de faltas de coincidencia de 0,0%

```
hum_CCL20        2 CCTKSLLLAALMSVLLLHLCGESEAASNFDCCLGYTDRILHPKFIVGFTRQLANEGCDIN
mou_CCL20        3 CGGKRLLFLALAWVLLAHLCSQAEAASNYDCCLSYIQTPLPSRAIVGFTRQMADEACDIN
                   *  * **  **  *** ***   ***** **** *    *    ******* * * ****

hum_CCL20       62 AIIFHTKKKLSVCANPKQTWVKYIVRLLSKKVKNM 96
mou_CCL20       63 AIIFHTKKRKSVCADPKQNWVKRAVNLLSLRVKKM 97
                   ********  **** *** ***  * ***  ** *
```

FIG. 14

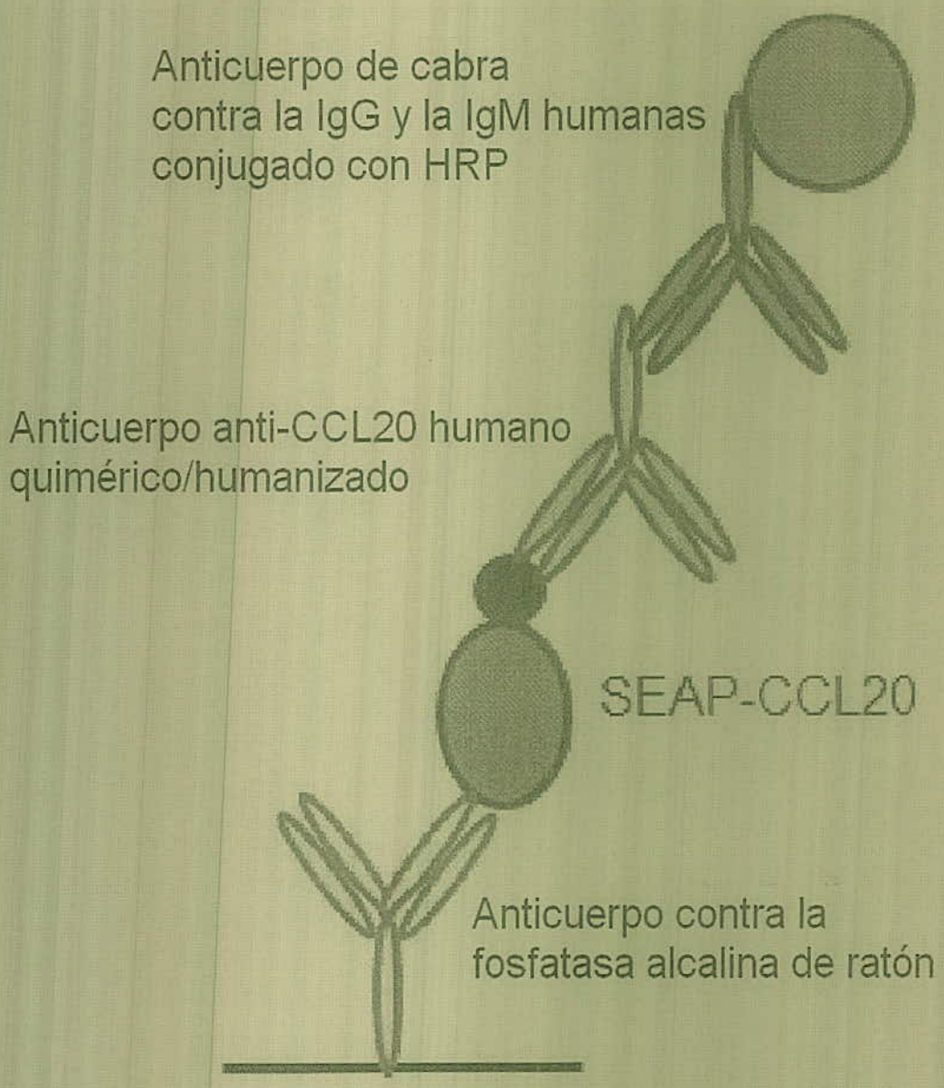

Anticuerpo de cabra
contra la IgG y la IgM humanas
conjugado con HRP
Anticuerpo anti-CCL20 humano
quimérico/humanizado
SEAP-CCL20
Anticuerpo contra la
fosfatasa alcalina de ratón

FIG. 15

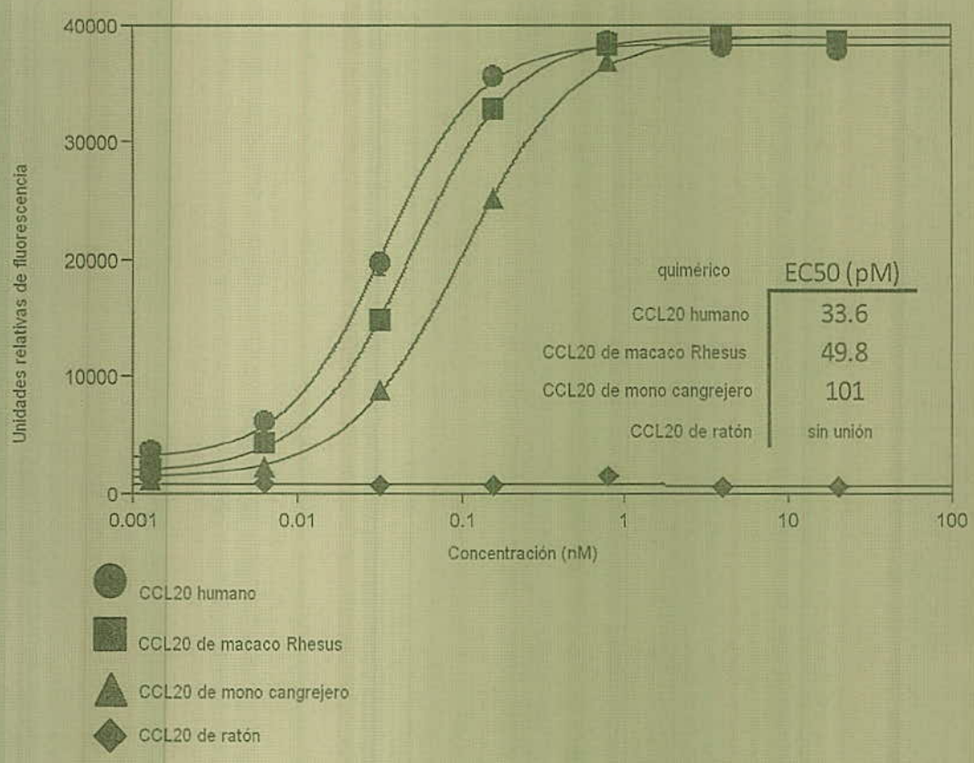

40000
30000
20000
10000
0
Unidades relativas de fluorescencia
0.001
0.01
0.1
1
10
100
Concentración (nM)
quimérico
EC50 (pM)
CCL20 humano
33.6
CCL20 de macaco Rhesus
49.8
CCL20 de mono cangrejero
101
CCL20 de ratón
sin unión
CCL20 humano
CCL20 de macaco Rhesus
CCL20 de mono cangrejero
CCL20 de ratón

FIG. 16A

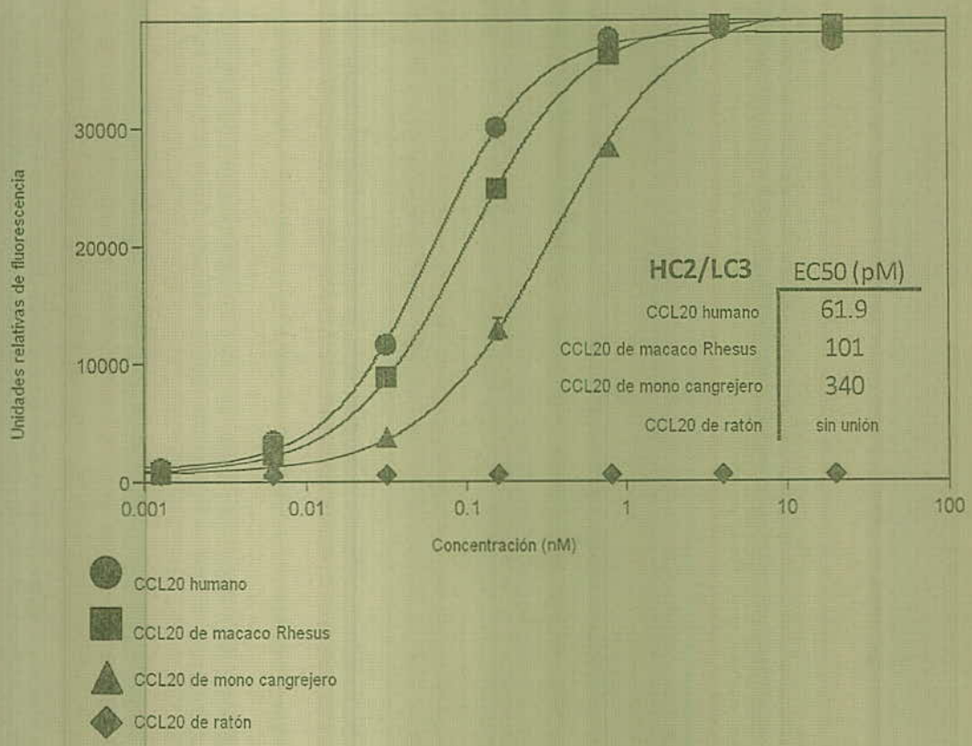

Unidades relativas de fluorescencia
30000
20000
10000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
Concentración (nM)
HC2/LC3
EC50 (pM)
CCL20 humano
61.9
CCL20 de macaco Rhesus
101
CCL20 de mono cangrejero
340
CCL20 de ratón
sin unión
CCL20 humano
CCL20 de macaco Rhesus
CCL20 de mono cangrejero
CCL20 de ratón

FIG. 16B

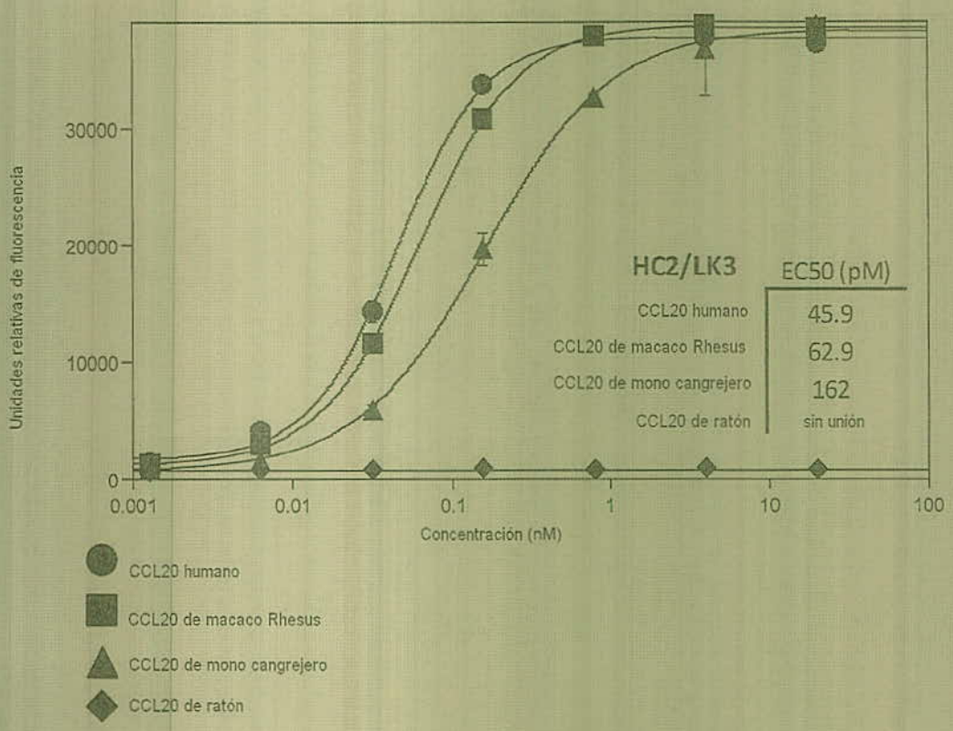
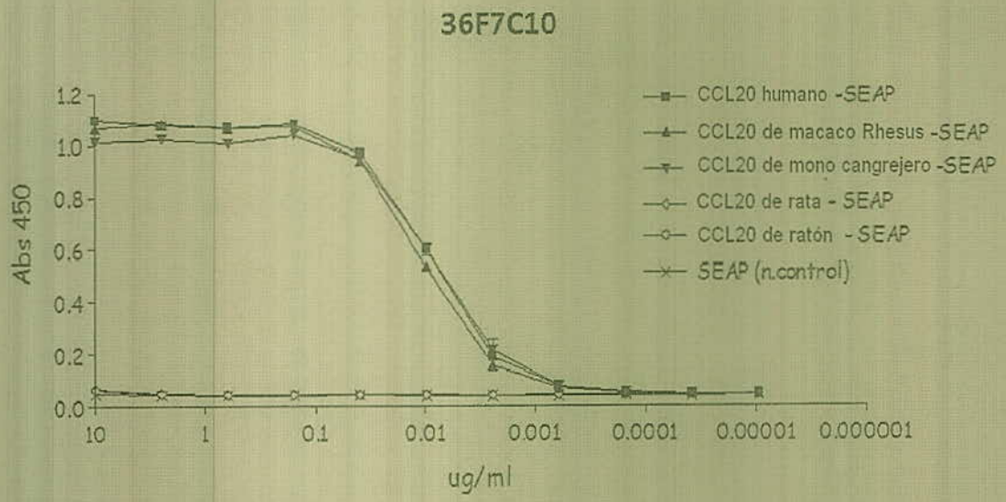

Unidades relativas de fluorescencia
30000
20000
10000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
Concentración (nM)
HC2/LK3
EC50 (pM)
CCL20 humano
45.9
CCL20 de macaco Rhesus
62.9
CCL20 de mono cangrejero
162
CCL20 de ratón
sin unión
CCL20 humano
CCL20 de macaco Rhesus
CCL20 de mono cangrejero
CCL20 de ratón

FIG. 16C



Quimera del anticuerpo 36F7C10 con un fragmento Fc humano

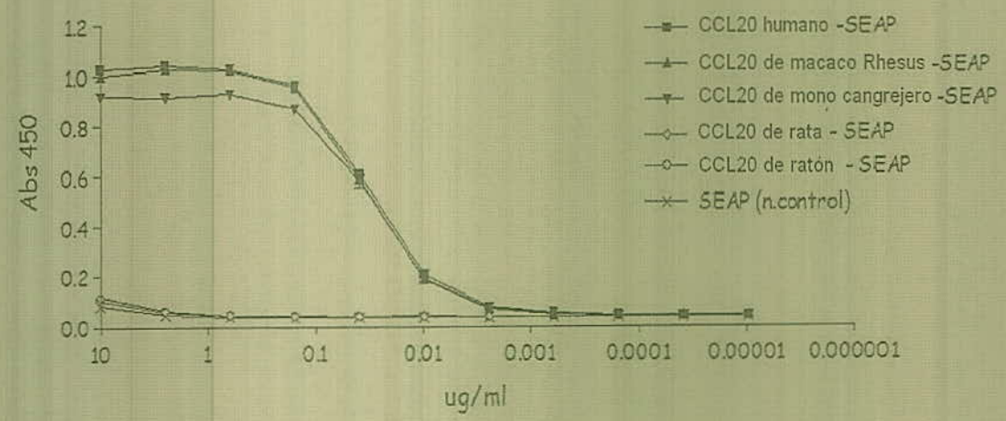
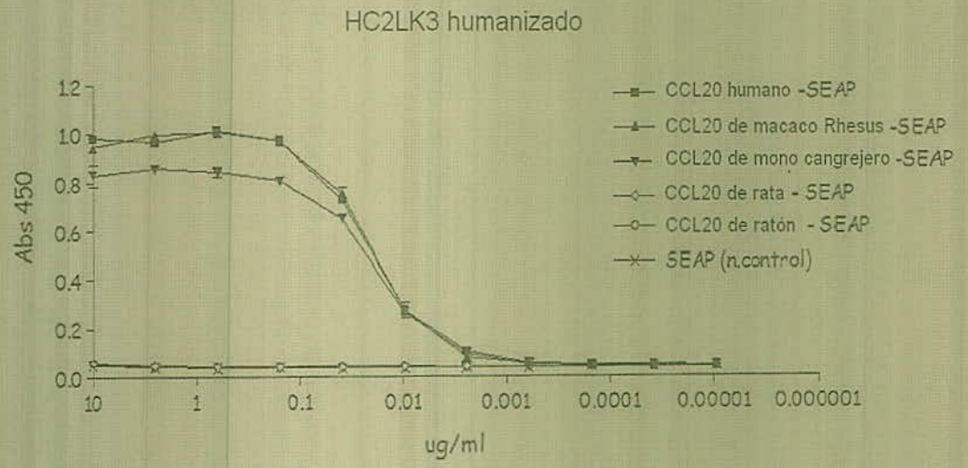


FIG. 17A


HC2LK3 humanizado
Abs 450
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
0.00001
0.000001
ug/ml
CCL20 humano -SEAP
CCL20 de macaco Rhesus -SEAP
CCL20 de mono cangrejero -SEAP
CCL20 de rata - SEAP
CCL20 de ratón - SEAP
SEAP (n.control)

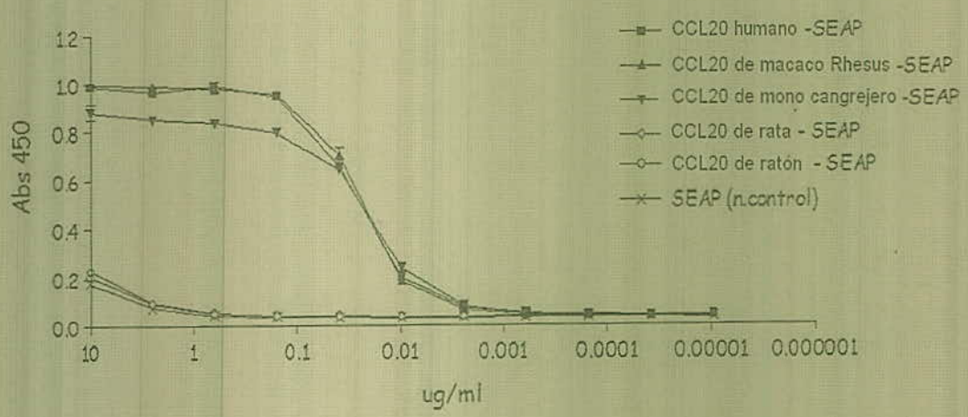

HC2LC3 humanizado
Abs 450
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
0.00001
0.000001
ug/ml
CCL20 humano -SEAP
CCL20 de macaco Rhesus -SEAP
CCL20 de mono cangrejero -SEAP
CCL20 de rata - SEAP
CCL20 de ratón - SEAP
SEAP (n.control)

FIG. 17B

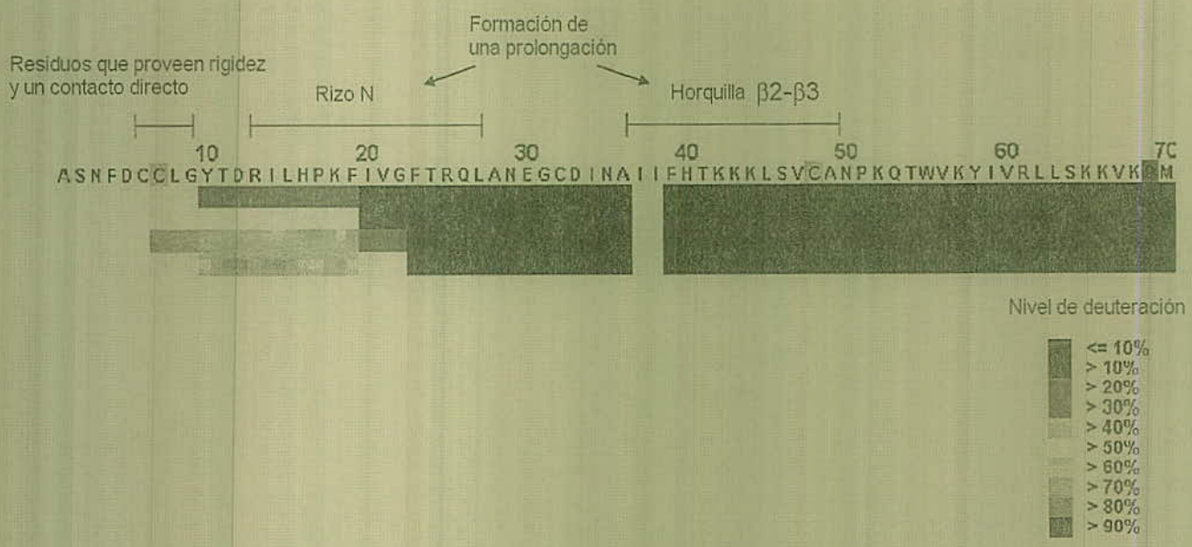
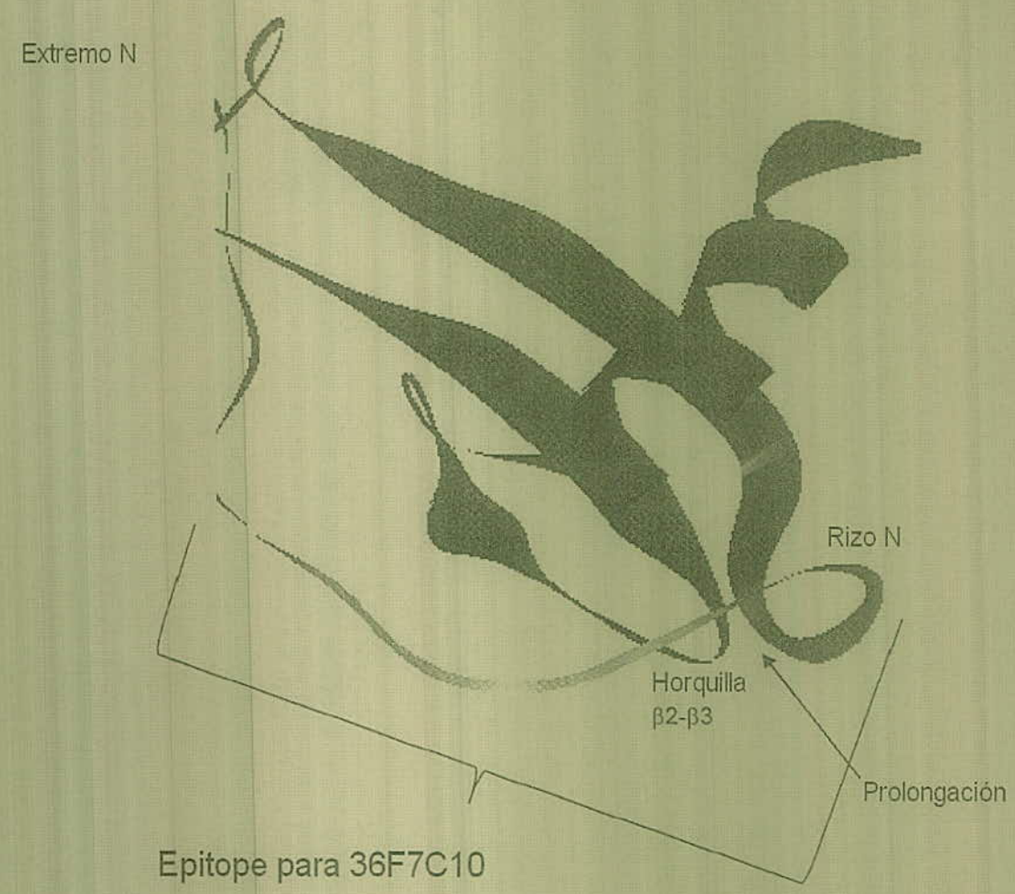
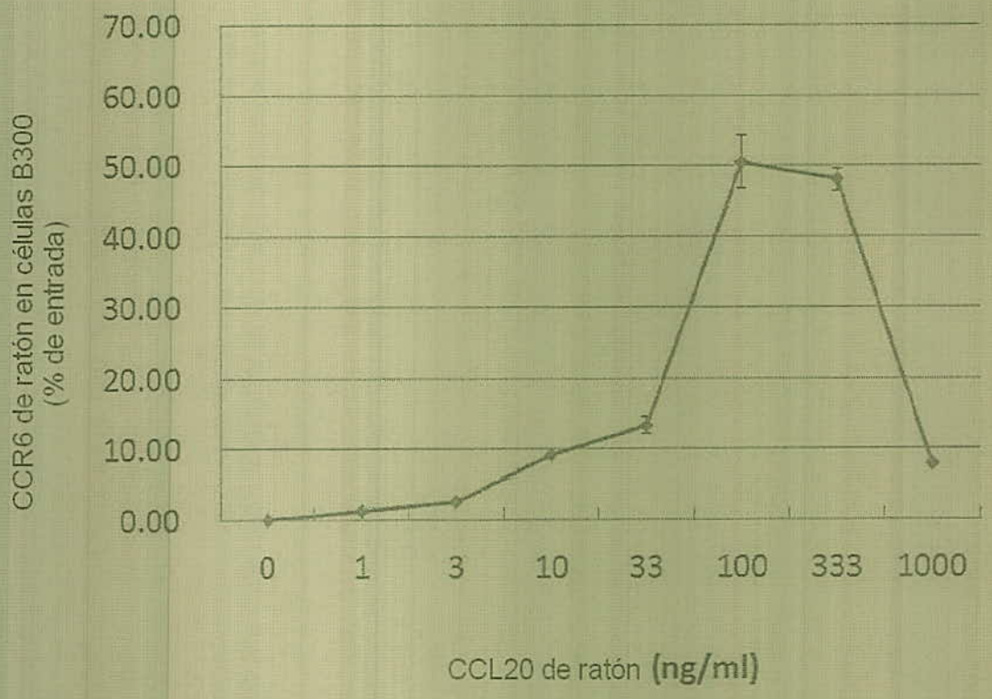

Formación de
una prolongación
Residuos que proveen rigidez
y un contacto directo
Rizo N
Horquilla β2-β3
10
20
30
40
50
60
70
ASNFDCCLGYTDRILHPKFIVGFTRQLANEGCDINAIIFHTKKKLSVCANPKQTWVKYIVRLLSKKVK
M
Nivel de deuteración
<= 10%
> 10%
> 20%
> 30%
> 40%
> 50%
> 60%
> 70%
> 80%
> 90%

FIG. 18A



Epitope para 36F7C10

FIG. 18B


CCR6 de ratón en células B300
(% de entrada)
70.00
60.00
50.00
40.00
30.00
20.00
10.00
0.00
0
1
3
10
33
100
333
1000
CCL20 de ratón (ng/ml)

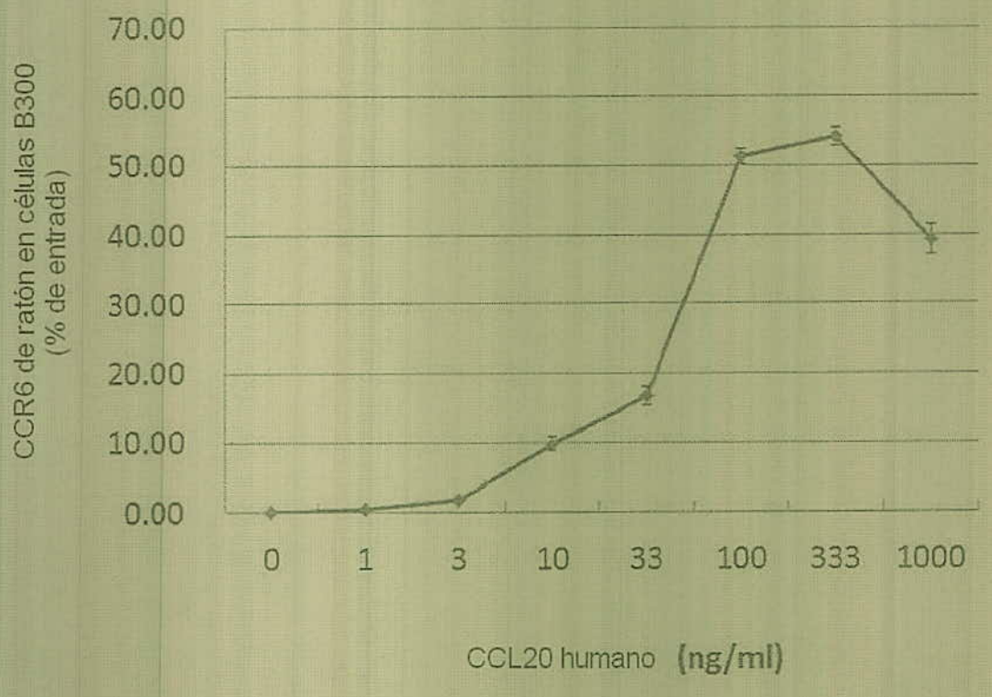

CCR6 de ratón en células B300
(% de entrada)
70.00
60.00
50.00
40.00
30.00
20.00
10.00
0.00
0
1
3
10
33
100
333
1000
CCL20 humano (ng/ml)

FIG. 19

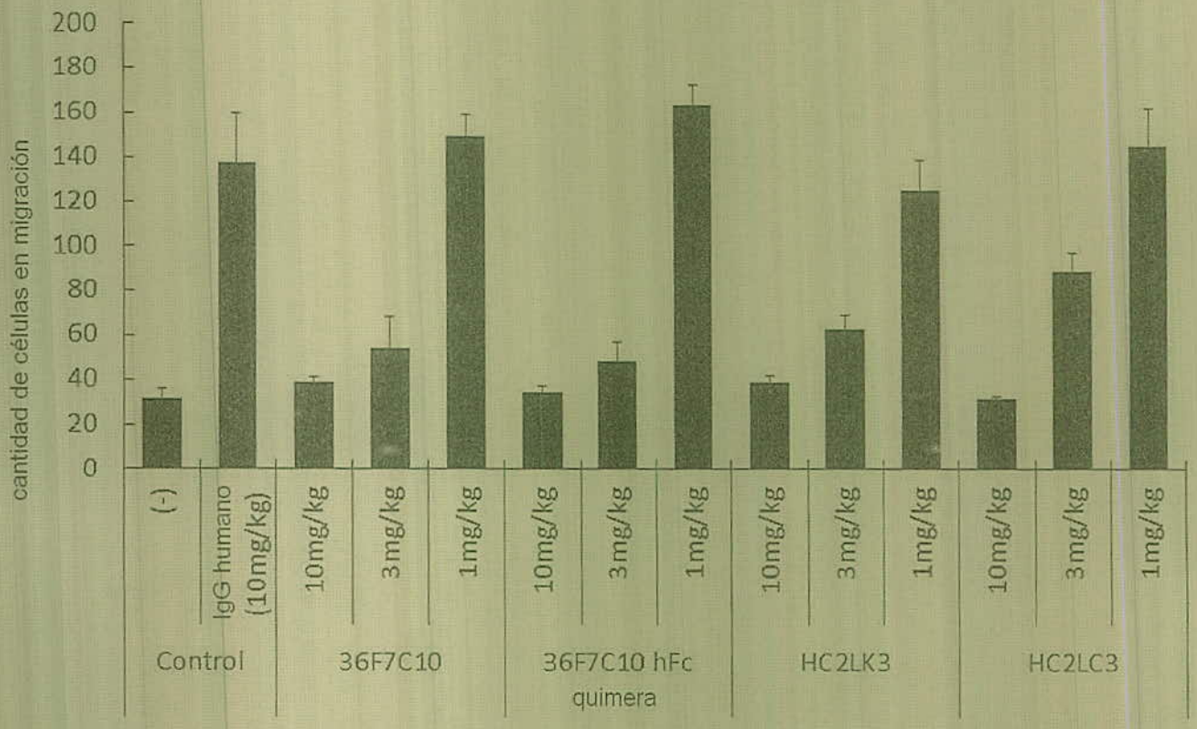

cantidad de células en migración
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
(-)
IgG humano (10mg/kg)
10mg/kg
3mg/kg
1mg/kg
10mg/kg
3mg/kg
1mg/kg
10mg/kg
3mg/kg
1mg/kg
10mg/kg
3mg/kg
1mg/kg
Control
36F7C10
36F7C10 hFc quimera
HC2LK3
HC2LC3

FIG. 20

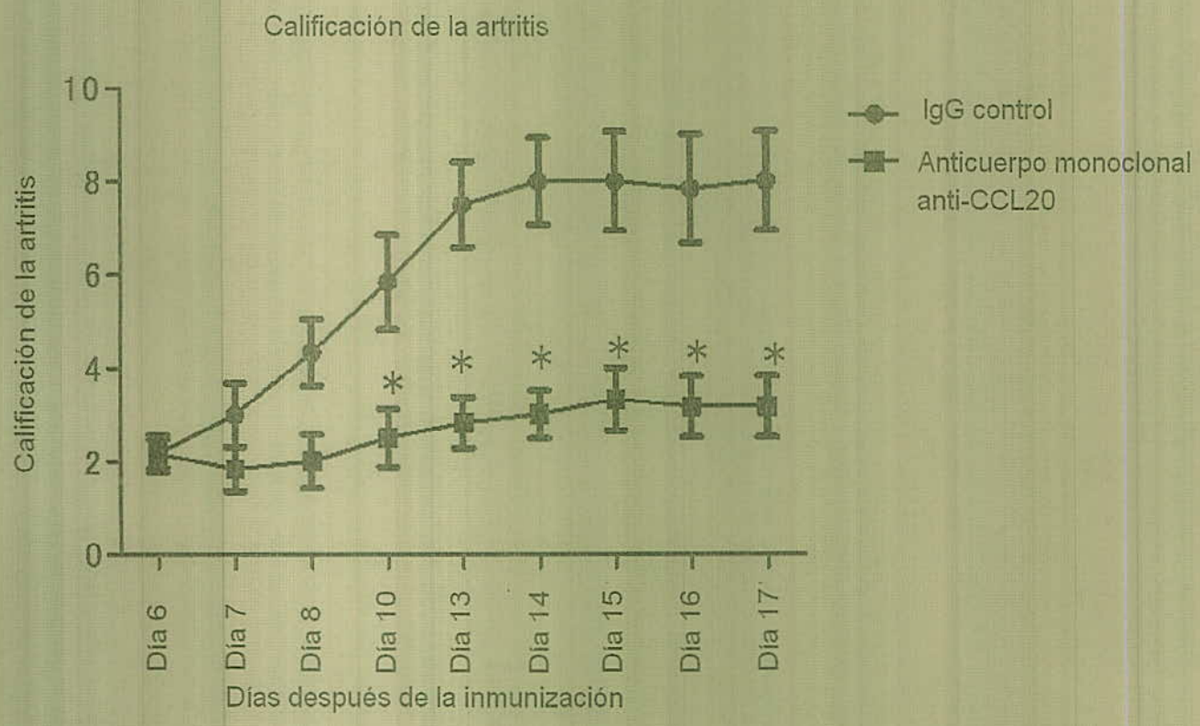

Calificación de la artritis
Calificación de la artritis
10
8
6
4
2
0
Día 6
Día 7
Día 8
Día 10
Día 13
Día 14
Día 15
Día 16
Día 17
Días después de la inmunización
IgG control
Anticuerpo monoclonal anti-CCL20

FIG. 21

IgG control	Día								
Animal	6	7	8	10	13	14	15	16	17
1	1	1	2	2	9	9	10	10	10
2	2	2	4	5	6	7	7	7	7
3	3	6	7	8	8	8	8	8	8
4	2	3	3	5	5	6	5	4	5
5	3	3	5	9	11	12	12	12	12
6	2	3	5	6	6	6	6	6	6
Promedio	2.2	3.0	4.3	5.8	7.5	8.0	8.0	7.8	8.0
ST DEV	0.3	0.7	0.7	1.0	0.9	0.9	1.1	1.2	1.1
2F5-5 Animal									
1	3	3	3	4	5	5	6	6	6
2	3	2	2	2	2	3	3	3	3
3	3	3	4	4	3	3	4	3	3
4	1	1	2	3	3	3	3	3	3
5	2	2	1	2	3	3	3	3	3
6	1	0	0	0	1	1	1	1	1
Promedio	2.2	1.8	2.0	2.5	2.8	3.0	3.3	3.2	3.2
Desviación estándar	0.4	0.5	0.6	0.6	0.5	0.5	0.7	0.7	0.7

FIG. 22

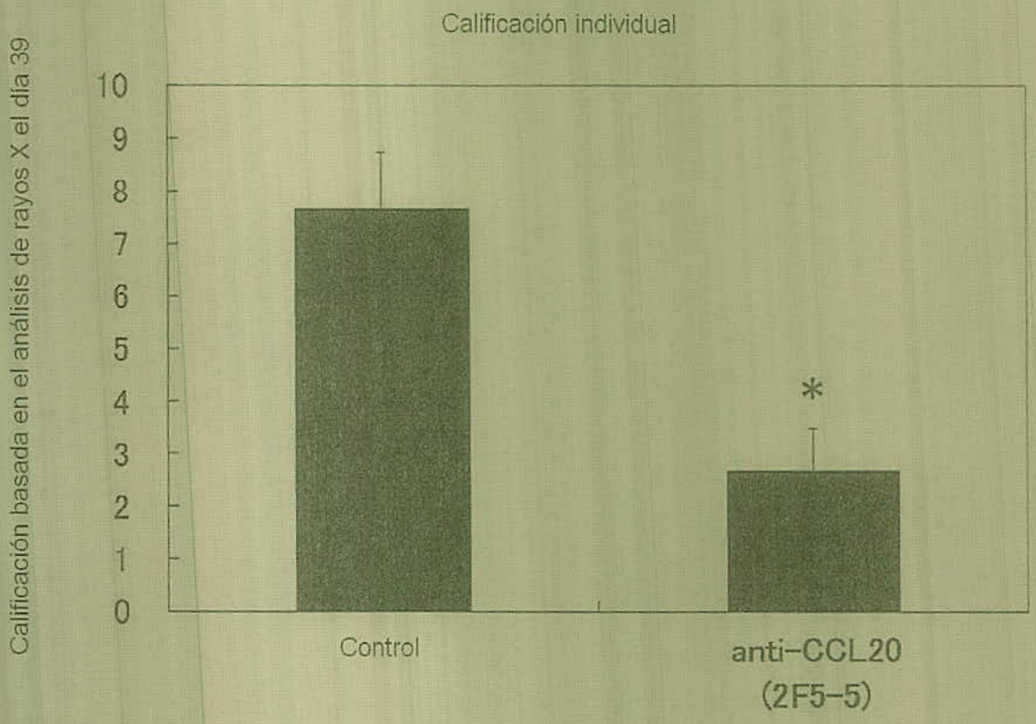

Calificación individual
Calificación basada en el análisis de rayos X el día 39
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
*
Control
anti-CCL20
(2F5-5)

FIG. 23

IgG Control



Calificación 9 (O/E/N=3/3/3)

Anti-CCL20 (2F5-5)



Calificación 3 (O/E/N=1/1/1)



Calificación 6 (O/E/N=2/2/2)



Calificación 1 (O/E/N=0/0/1)

FIG. 24

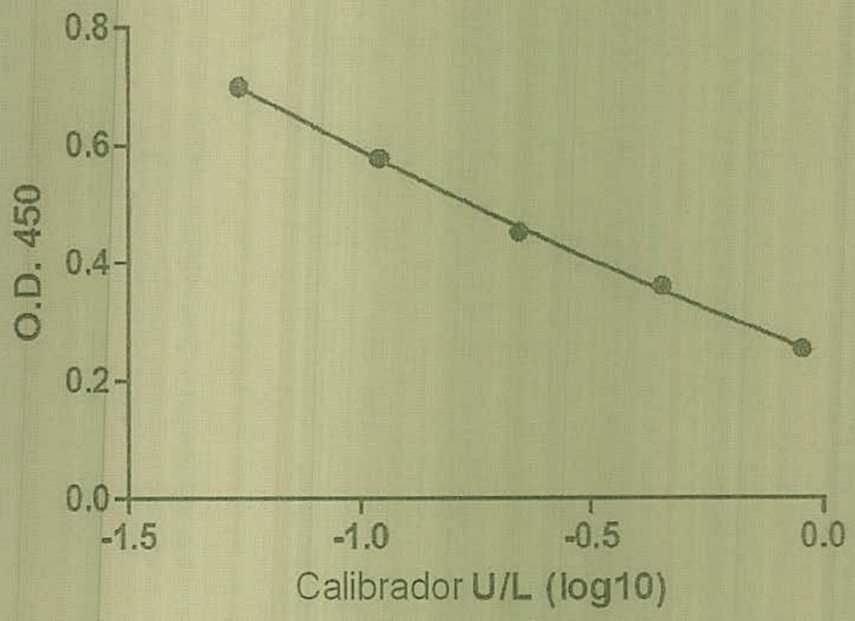


FIG. 25A

				CIA con IFA (coadyuvante incompleto de Freund)				CIA con IFA (coadyuvante completo de Freund)			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	1		normal_1	IgG control de hámster		anti-CCL20 (2F5-5)		IgG control de hámster		anti-CCL20 (2F5-5)	
B	2		normal_2	IgG control de hámster		anti-CCL20 (2F5-5)		IgG control de hámster		anti-CCL20 (2F5-5)	
C	3		normal_3	IgG control de hámster		anti-CCL20 (2F5-5)		IgG control de hámster		anti-CCL20 (2F5-5)	
D	4		normal_4	IgG control de hámster		anti-CCL20 (2F5-5)		IgG control de hámster		anti-CCL20 (2F5-5)	
E	5		normal_5	IgG control de hámster		anti-CCL20 (2F5-5)		IgG control de hámster		anti-CCL20 (2F5-5)	
F	6		normal_6	IgG control de hámster		anti-CCL20 (2F5-5)		IgG control de hámster		anti-CCL20 (2F5-5)	
G	Calibrador U/L	0	0.9	0.45	0.22	0.11	0.055	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
H								Blanco	Blanco	Blanco	Blanco

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	1	0.669	0.637	0.504	0.483	0.558	0.585	0.508	0.512	0.552	0.566
B	2	0.577	0.559	0.493	0.468	0.541	0.552	0.442	0.445	0.614	0.618
C	3	0.592	0.550	0.559	0.484	0.551	0.566	0.475	0.482	0.520	0.549
D	4	0.551	0.537	0.460	0.432	0.512	0.523	0.437	0.461	0.513	0.524
E	5	0.600	0.557	0.515	0.480	0.481	0.487	0.529	0.518	0.554	0.581
F	6	0.589	0.577	0.431	0.400	0.518	0.538	0.443	0.456	0.537	0.561
G	Calibrador OD450	0.800	0.250	0.360	0.450	0.575	0.692	0.848	0.840	0.855	0.897
H		0.807	0.257	0.361	0.456	0.581	0.706	0.873	0.890	0.876	0.941

Los valores de la OD450 se obtuvieron con un ensayo clorimétrico convencional

FIG. 25B

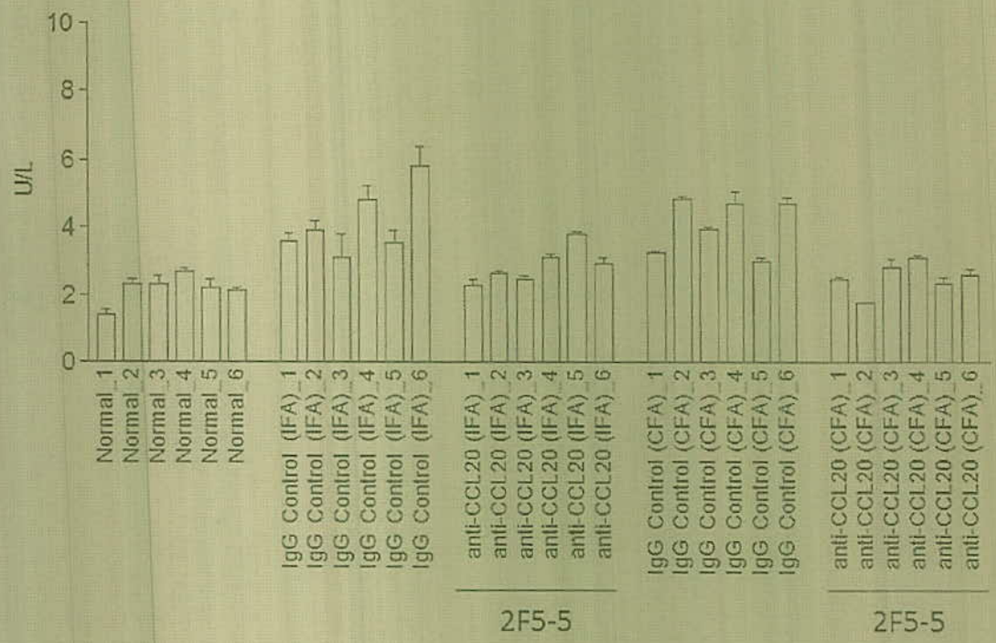

10
8
6
4
2
0
U/L
Normal_1
Normal_2
Normal_3
Normal_4
Normal_5
Normal_6
IgG Control (IFA)_1
IgG Control (IFA)_2
IgG Control (IFA)_3
IgG Control (IFA)_4
IgG Control (IFA)_5
IgG Control (IFA)_6
anti-CCL20 (IFA)_1
anti-CCL20 (IFA)_2
anti-CCL20 (IFA)_3
anti-CCL20 (IFA)_4
anti-CCL20 (IFA)_5
anti-CCL20 (IFA)_6
2F5-5
IgG Control (CFA)_1
IgG Control (CFA)_2
IgG Control (CFA)_3
IgG Control (CFA)_4
IgG Control (CFA)_5
IgG Control (CFA)_6
anti-CCL20 (CFA)_1
anti-CCL20 (CFA)_2
anti-CCL20 (CFA)_3
anti-CCL20 (CFA)_4
anti-CCL20 (CFA)_5
anti-CCL20 (CFA)_6
2F5-5

FIG. 25C

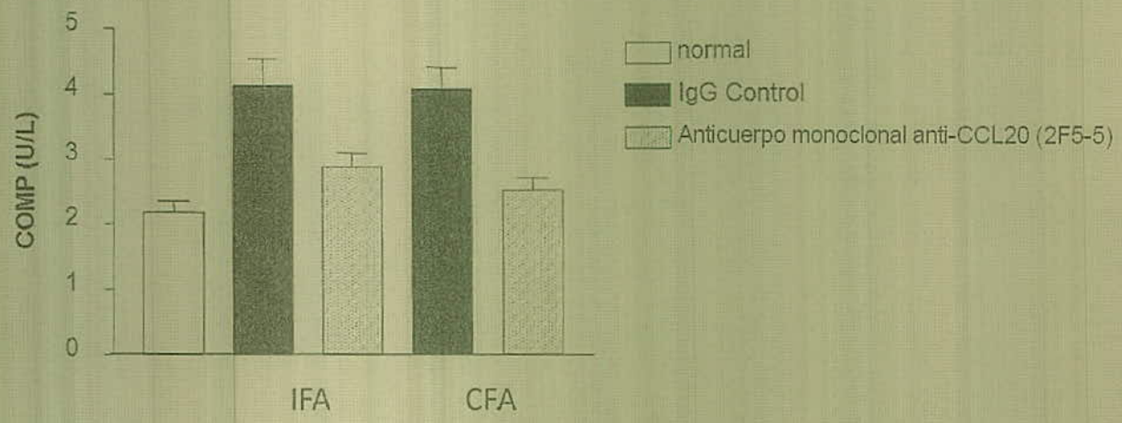

COMP (U/L)
5
4
3
2
1
0
IFA
CFA
normal
IgG Control
Anticuerpo monoclonal anti-CCL20 (2F5-5)

FIG. 26

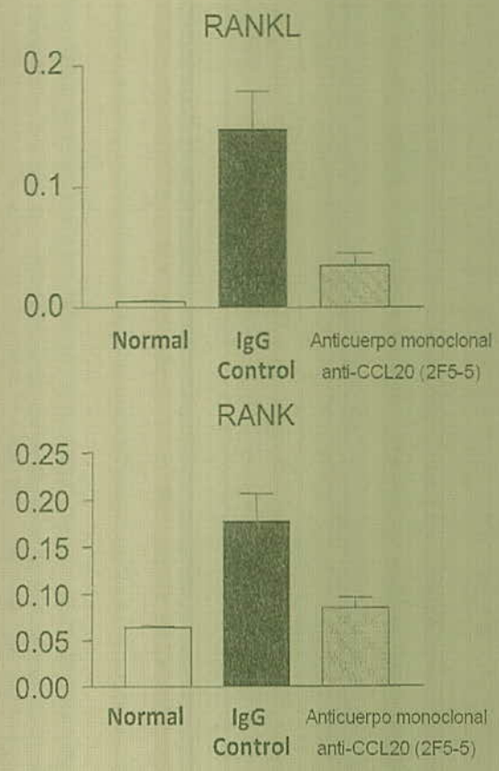

RANKL
0.2
0.1
0.0
Normal
IgG Control
Anticuerpo monoclonal anti-CCL20 (2F5-5)
RANK
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
Normal
IgG Control
Anticuerpo monoclonal anti-CCL20 (2F5-5)

FIG. 27A

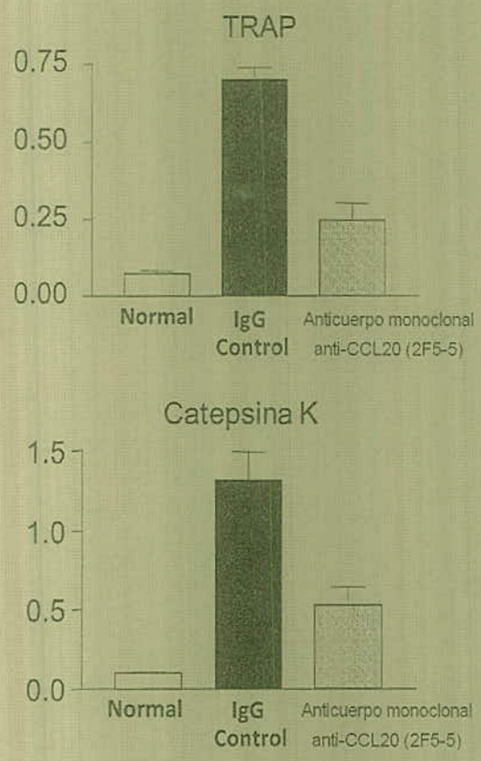

TRAP
0.75
0.50
0.25
0.00
Normal
IgG Control
Anticuerpo monoclonal anti-CCL20 (2F5-5)
Catepsina K
1.5
1.0
0.5
0.0
Normal
IgG Control
Anticuerpo monoclonal anti-CCL20 (2F5-5)

FIG. 27B

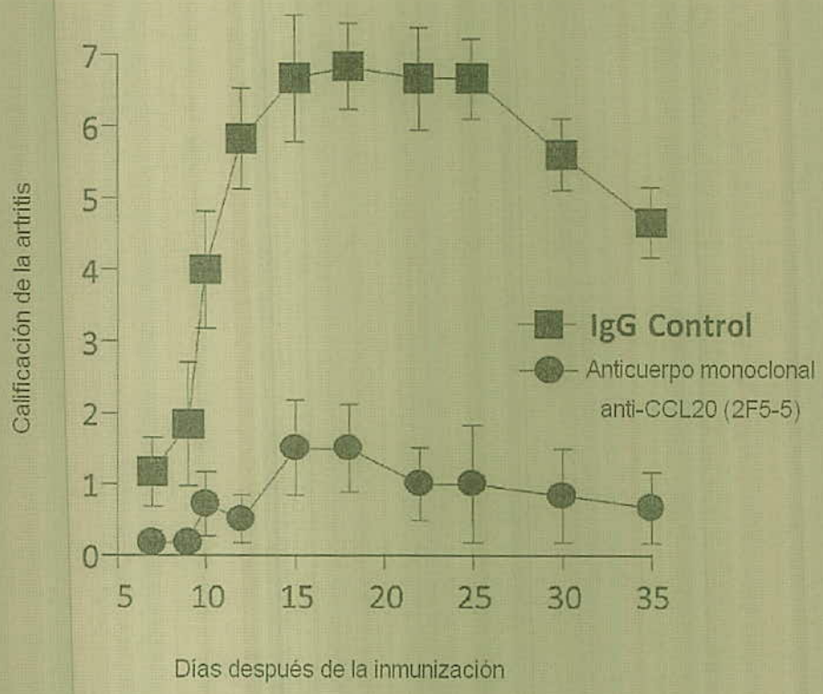

Calificación de la artritis
0
1
2
3
4
5
6
7
5
10
15
20
25
30
35
Días después de la inmunización
IgG Control
Anticuerpo monoclonal
anti-CCL20 (2F5-5)

FIG. 28

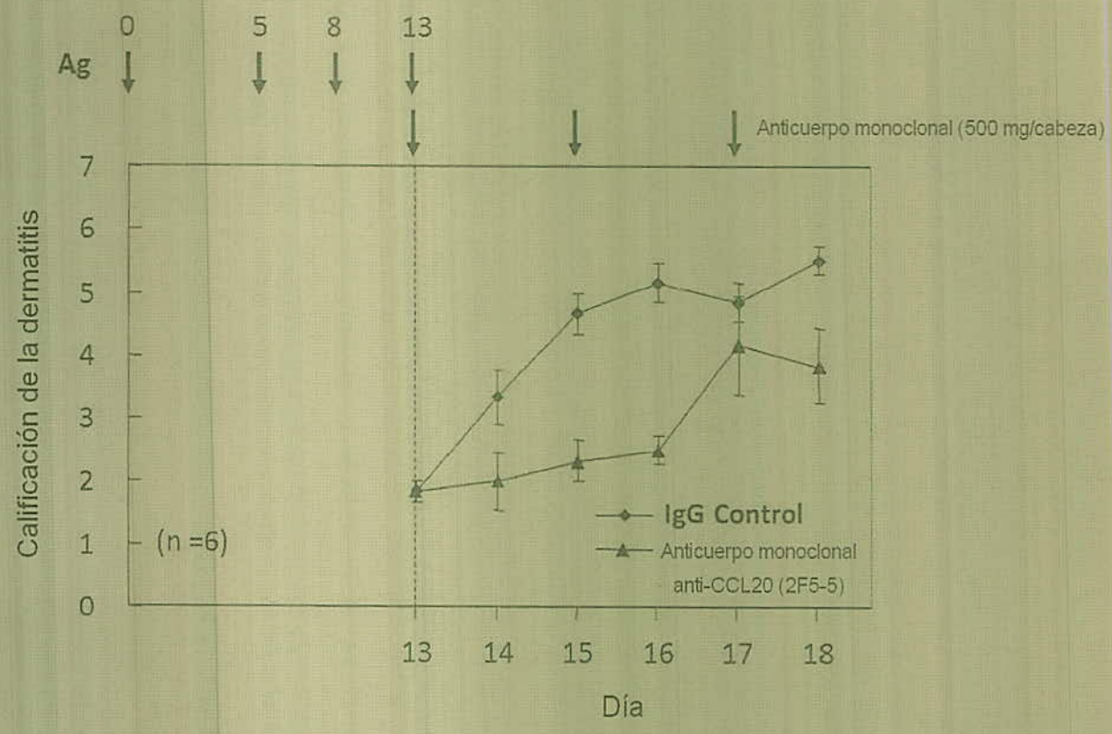

0
5
8
13
Ag
Anticuerpo monoclonal (500 mg/cabeza)
Calificación de la dermatitis
7
6
5
4
3
2
1
0
(n =6)
IgG Control
Anticuerpo monoclonal
anti-CCL20 (2F5-5)
13
14
15
16
17
18
Día

FIG. 29

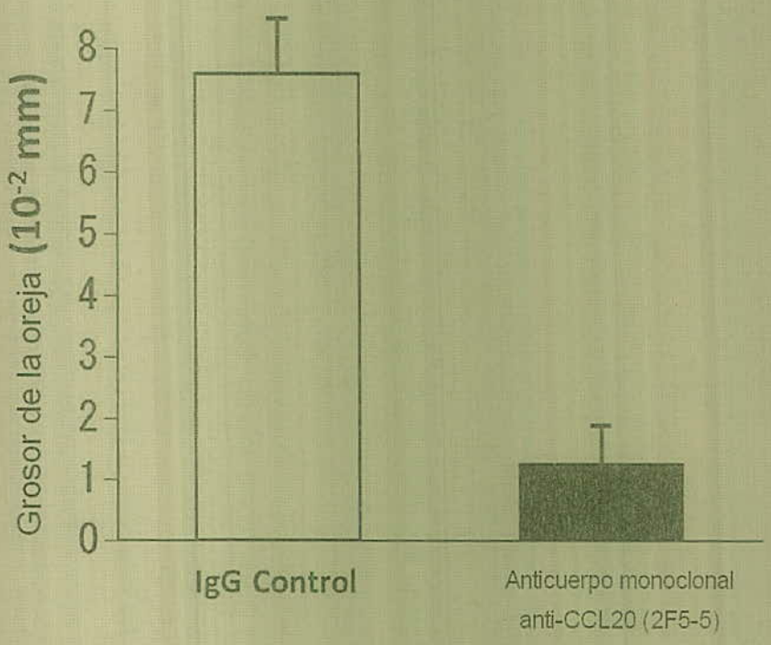

Grosor de la oreja (10^{-2} mm)
8
7
6
5
4
3
2
1
0
IgG Control
Anticuerpo monoclonal anti-CCL20 (2F5-5)

FIG. 30

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> IMAI, TOSHIO
KLINE, BRAD
KAWANO, TETSU
GRASSO, LUIGI
SAKAMOTO, YOSHIMASA
SPIDEL, JARED
NISHIMURA, MIYUKI
MURMOTO, KENZO
HORIZOE, TASTUO

<120> ANTICUERPOS ANTI-CCL20 NEUTRALIZANTES

<130> 106806-0008-WO1

<140> PCT/US2011/061525
<141> 2011-11-18

<150> 61/415,614
<151> 2010-11-19

<160> 117

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 469
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 2
<211> 469
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 2
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

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

Thr Asn Tyr Trp Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

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

Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 3
<211> 469
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 3
Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

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

Thr Asn Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 4
<211> 469
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 4

```
Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1               5                  10                  15

Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
            20                  25                  30

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

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

Glu Trp Met Gly Leu Ile Asp Pro Ser Asp Lys Tyr Thr Asn Tyr Asn
65                  70                  75                  80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 5
<211> 469
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 5
Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

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

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

Glu Trp Met Gly Leu Ile Asp Pro Ser Asp Lys Tyr Thr Asn Tyr Asn
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser
85 90 95

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

Tyr Tyr Cys Thr Arg Gly Asn Tyr Gly Val Asp Tyr Gly Met Asp Tyr
115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 6
<211> 469
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 6
Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

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

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

Glu Trp Met Gly Leu Ile Asp Pro Ser Asp Lys Tyr Thr Asn Tyr Asn
65 70 75 80

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

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

Tyr Tyr Cys Thr Arg Gly Asn Tyr Gly Val Asp Tyr Gly Met Asp Tyr
115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 7
<211> 233
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 7
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
20 25 30

Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 8
<211> 236
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 8
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

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

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

Glu Asn Ile Tyr Gly Ala Leu Asn Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Gly Lys
50 55 60

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

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

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

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

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

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

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

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

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 9
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 9
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 10
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 10
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Thr Arg Gly Asn Tyr Gly Val Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 11
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 11
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Thr Arg Gly Asn Tyr Gly Val Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 12
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 12
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 13
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 13
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 14
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 14
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 15
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 15
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 Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Arg Gln Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

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

<210> 16
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 16
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 Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 17
<211> 1410
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 17
atgggctggt cctgcatcat tctgttcctg gtggccactg ctaccggagt gcacagccag 60

gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaaacccg gtgcaagtgt gaaggtgtca 120

tgtaaagcat ccggctatac attcactaac tactggatgc attgggtgag gcaggctcca 180

ggacagggac tggaatggat gggcgtgatc gacccttcag attcctacac cacatatgcc 240

cagaagtttc agggcagggt gaccatgaca gtggacacta gcacctctac agtgtacatg 300

gagctgtcca gcctgagaag tgaagataca gcagtgtact attgcgcccg cggcaattac 360

ggagtggact atgccatgga ttactggggg cagggtactc tggtgaccgt gtctagtgct 420

tctaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 720

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtctcc cgggaaatga 1410

<210> 18
<211> 1410
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 18
atgggctggt cctgcatcat tctgttcctg gtggcaactg ccaccggagt gcacagccag 60

gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaaacccg gtgcaagtgt gaaagtgtca 120

tgcaaggcat ccggctatac attcactaac tactggatgc attgggtgaa gcaggcacca 180

ggacagggac tggaatggat cggcgtgatc gacccttcag attcctacac cacatataat 240

cagaagttta aaggcaaggc taccatgaca agggacacta gcacctctac agtgtacatg 300

gagctgtcca gcctgaggtc cgaagataca gccgtgtact attgcactcg gggcaactac 360

ggagtggact atgctatgga ttactggggg cagggtacta gtgtgaccgt gtctagtgca 420

tctaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 720

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtctcc cgggaaatga 1410

<210> 19
<211> 1410
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 19
atggactgga catggagaat cctgttcctg gtggccgctg caaccggagc acacagccag 60

gtgcagctgg tgcagtctgg agcagaggtg aagaaacccg gtgctagtgt gaaagtgtca 120

tgcaaggcct ccgggtatac tttcaccaac tactggatgc attgggtgag gcaggctcca 180

ggacagggac tggaatggat gggcgtgatt gacccttcag attcctacac cacatataat 240

cagaagttta aaggaaaggc aacactgact gtggacacca gcacatctac tgcctacatg 300

gagctgtcca gcctgaggtc cgaagatact gccgtgtact attgtacccg gggcaactac 360

ggagtggact atgcaatgga ttactggggg cagggtaccc tggtgacagt gtctagtgct 420

agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 720

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 1410

<210> 20
<211> 1410
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 20
atggactgga cctggcgaat cctgttcctg gtggccgctg caacaggagc acactcacag 60

gtgcagctgg tgcagtccgg ggcagaggtg aagaaacccg gtgccagcgt gaaggtgtct 120

tgcaaagcta gtggctatac cttcacaagc tactggatgc attgggtgcg gcaggcacca 180

ggacagggac tggaatggat gggcctgatt gacccttctg ataagtacac taactacaac 240

cagaagttta aaggaagggt gactatgacc cgggacacat caacttccac cgtgtacatg 300

gagctgtcca gcctgagatc cgaagatacc gccgtgtact attgtgctcg cggcaactac 360

ggagtggact atggcatgga ttactggggg cagggtacac tggtgaccgt gtccagtgct 420

agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 720

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 1410

<210> 21
<211> 1410
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 21
atggactgga cttggaggat cctgttcctg gtggccgctg caaccggagc tcactcacag 60

gtgcagctgg tgcagtccgg agcagaggtg aagaaacccg gtgcctccgt gaaggtgtct 120

tgcaaagcaa gtggctatac cttcacaagc tactggatgc attgggtgag acaggcacca 180

ggacagggac tggaatggat gggcctgatt gacccttctg ataagtacac caactacaac 240

cagaagttta aaggacgcgt gactctgacc gtggacacat caacttccac cgtgtacatg 300

gagctgtcca gcctgaggtc cgaagatacc gcagtgtact attgtacacg gggcaactac 360

ggagtggact atggcatgga ttactggggg cagggtacac tggtgaccgt gtccagtgct 420

agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 720

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 1410

<210> 22
<211> 1410
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 22
atggactgga cttggagaat cctgttcctg gtggccgctg caaccggagc tcactcacag 60

gtgcagctgg tgcagtccgg agcagaggtg aagaaacccg gtgcctccgt gaaagtgtct 120

tgcaaggcta gtggctatac cttcacaagc tactggatgc attgggtgag gcaggcacca 180

ggacagggac tggaatggat gggcctgatt gacccttctg ataagtacac caactacaac 240

cagaagttta aaggaaaggc aactctgacc gtggacacat caacttccac cgcctacatg 300

gagctgtcca gcctgaggtc cgaagatacc gccgtgtact attgtacacg gggcaactac 360

ggagtggact atggcatgga ttactggggg cagggtacac tggtgaccgt gtccagtgct 420

agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 720
tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 1410

<210> 23
<211> 702
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 23
atgggctggt cctgcatcat tctgttcctg gtggcaaccg ccacaggagt gcacagcgac 60

atccagatga cccagtctcc atccagcctg agtgcctcag tgggcgatag ggtgactatc 120

acctgtcggg ccagcgagaa catctacggc gctctgaatt ggtatcagca gaagccagga 180

aaagctccca agctgctgat ctacggggct acaaacctgg cagacggtgt gcccagtcga 240

ttctccggta gcggctctgg acgacagtat tcactgacta tctctagtct gcagcctgaa 300

gatttcgcca cttactattg ccagaatgtg ctgattactc catatacctt tggcggaggg 360

acaaaactgg agatcaagag aactgtggcc gctcccagtg tgttcatttt tcccccttca 420

gacgaacagc tgaaatcagg gaccgcttcc gtggtgtgtc tgctgaacaa tttctaccct 480

cgcgaggcaa aagtgcagtg gaaggtggat aacgccctgc agagtggcaa ttcacaggag 540

tccgtgaccg aacaggacag caaagattct acatatagtc tgtcatccac cctgacactg 600

agcaaggctg attacgagaa gcacaaagtg tatgcatgcg aagtgactca tcaggggctg 660
agctctcccg tgaccaagtc ttttaaccgg ggtgaatgtt ga 702

<210> 24
<211> 711
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 24
atggacatga gggtgcctgc tcagctgctg ggactgctgc tgctgtggct gaggggagca 60

cgatgcgaca tccagatgac tcagagccca tccagcctgt cagcctccgt gggcgacagg 120

gtgaccatca catgtggagc atccgagaac atctacgggg ccctgaattg gtatcagagg 180

aagcccggca aagctcctaa gctgctgatc tacggtgcca caaacctggc tgatggcgtg 240

ccctccagat tcagcggctc tggaagtggg cgcgactata ctctgaccat ttctagtctg 300

cagccagagg atttcgccac ctactattgc cagaatgtgc tgatcacacc ctacactttt 360

ggtcagggca caaaactgga aattaagcgt acggtggctg caccatctgt cttcatcttc 420

ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480

ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac 540

tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600

ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 660

cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgttg a 711

<210> 25
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 25
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaaac ccggtgcaag tgtgaaggtg 60

tcatgtaaag catccggcta tacattcact aactactgga tgcattgggt gaggcaggct 120

ccaggacagg gactggaatg gatgggcgtg atcgaccctt cagattccta caccacatat 180

gcccagaagt ttcagggcag ggtgaccatg acagtggaca ctagcacctc tacagtgtac 240

atggagctgt ccagcctgag aagtgaagat acagcagtgt actattgcgc ccgcggcaat 300
tacggagtgg actatgccat ggattactgg gggcagggta ctctggtgac cgtgtctagt 360

<210> 26
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 26
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaaac ccggtgcaag tgtgaaagtg 60

tcatgcaagg catccggcta tacattcact aactactgga tgcattgggt gaagcaggca 120

ccaggacagg gactggaatg gatcggcgtg atcgaccctt cagattccta caccacatat 180

aatcagaagt ttaaaggcaa ggctaccatg acaagggaca ctagcacctc tacagtgtac 240

atggagctgt ccagcctgag gtccgaagat acagccgtgt actattgcac tcggggcaac 300

tacggagtgg actatgctat ggattactgg gggcagggta ctagtgtgac cgtgtctagt 360

<210> 27
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 27
caggtgcagc tggtgcagtc tggagcagag gtgaagaaac ccggtgctag tgtgaaagtg 60

tcatgcaagg cctccgggta tactttcacc aactactgga tgcattgggt gaggcaggct 120

ccaggacagg gactggaatg gatgggcgtg attgaccctt cagattccta caccacatat 180

aatcagaagt ttaaaggaaa ggcaacactg actgtggaca ccagcacatc tactgcctac 240

atggagctgt ccagcctgag gtccgaagat actgccgtgt actattgtac ccggggcaac 300

tacggagtgg actatgcaat ggattactgg gggcagggta ccctggtgac agtgtctagt 360

<210> 28
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 28
caggtgcagc tggtgcagtc cggggcagag gtgaagaaac ccggtgccag cgtgaaggtg 60

tcttgcaaag ctagtggcta taccttcaca agctactgga tgcattgggt gcggcaggca 120

ccaggacagg gactggaatg gatgggcctg attgaccctt ctgataagta cactaactac 180

aaccagaagt ttaaaggaag ggtgactatg acccgggaca catcaacttc caccgtgtac 240

atggagctgt ccagcctgag atccgaagat accgccgtgt actattgtgc tcgcggcaac 300

tacggagtgg actatggcat ggattactgg gggcagggta cactggtgac cgtgtccagt 360

<210> 29
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 29
caggtgcagc tggtgcagtc cggagcagag gtgaagaaac ccggtgcctc cgtgaaggtg 60

tcttgcaaag caagtggcta taccttcaca agctactgga tgcattgggt gagacaggca 120

ccaggacagg gactggaatg gatgggcctg attgaccctt ctgataagta caccaactac 180

aaccagaagt ttaaaggacg cgtgactctg accgtggaca catcaacttc caccgtgtac 240

atggagctgt ccagcctgag gtccgaagat accgcagtgt actattgtac acggggcaac 300

tacggagtgg actatggcat ggattactgg gggcagggta cactggtgac cgtgtccagt 360

<210> 30
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 30
caggtgcagc tggtgcagtc cggagcagag gtgaagaaac ccggtgcctc cgtgaaagtg 60

tcttgcaagg ctagtggcta taccttcaca agctactgga tgcattgggt gaggcaggca 120

ccaggacagg gactggaatg gatgggcctg attgaccctt ctgataagta caccaactac 180

aaccagaagt ttaaaggaaa ggcaactctg accgtggaca catcaacttc caccgcctac 240

atggagctgt ccagcctgag gtccgaagat accgccgtgt actattgtac acggggcaac 300

tacggagtgg actatggcat ggattactgg gggcagggta cactggtgac cgtgtccagt 360

<210> 31
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 31
gacatccaga tgacccagtc tccatccagc ctgagtgcct cagtgggcga tagggtgact 60

atcacctgtc gggccagcga gaacatctac ggcgctctga attggtatca gcagaagcca 120

ggaaaagctc ccaagctgct gatctacggg gctacaaacc tggcagacgg tgtgcccagt 180

cgattctccg gtagcggctc tggacgacag tattcactga ctatctctag tctgcagcct 240

gaagatttcg ccacttacta ttgccagaat gtgctgatta ctccatatac ctttggcgga 300

gggacaaaac tggagatcaa g 321

<210> 32
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 32
gacatccaga tgactcagag cccatccagc ctgtcagcct ccgtgggcga cagggtgacc 60

atcacatgtg gagcatccga gaacatctac ggggccctga attggtatca gaggaagccc 120

ggcaaagctc ctaagctgct gatctacggt gccacaaacc tggctgatgg cgtgccctcc 180

agattcagcg gctctggaag tgggcgcgac tatactctga ccatttctag tctgcagcca 240

gaggatttcg ccacctacta ttgccagaat gtgctgatca caccctacac ttttggtcag 300

ggcacaaaac tggaaattaa g 321

<210> 33
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 33
Met Arg Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val Asn Ser

<210> 34
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 34
Met Gly Val Pro Thr Gln Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Val Val Val
1 5 10 15

Val Arg Cys

<210> 35
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 35
Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Ile Ala Gly
1 5 10 15

Val Gln Ser

<210> 36
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 36
Met Gly Val Pro Thr Gln Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Val Val Val
1 5 10 15

Val Arg Cys

<210> 37
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 37
Met Arg Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val Asn Ser

<210> 38
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 38
Met Gly Val Pro Thr Gln Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Val Val Val
1 5 10 15

Val Arg Cys

<210> 39
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 39
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Asn Tyr Gly Val Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 40
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

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

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Met Ser Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Ile Thr Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 41
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 41
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30
Glu Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Lys Cys Tyr Tyr Gly Ser Ala Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 42
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 42
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Met Ser Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Ser Thr Pro Trp
85 90 95

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

<210> 43
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 43
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 44
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 44
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Met Ser Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Ser Thr Pro Tyr

85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 45
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleotido sintético

<400> 45
atgagatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt caactcc 57

<210> 46
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleotido sintético

<400> 46
atgggtgtac ccactcagct cctgttgctg tggcttacag tcgtagttgt cagatgt 57

<210> 47
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleotido sintético

<400> 47
atggaatgga gctgggtctt tctcttcctc ctgtcagtaa ttgcaggtgt ccaatcc 57

<210> 48
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleotido sintético

<400> 48
atgggtgtac ccactcagct cctgttgctg tggcttacag tcgtagttgt cagatgt 57

<210> 49
<211> 57

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleotido sintético

<400> 49
atgagatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt caactcc 57

<210> 50
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleotido sintético

<400> 50
atgggtgtac ccactcagct cctgttgctg tggcttacag tcgtagttgt cagatgt 57

<210> 51
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 51
caggtccaac tgcagcagcc tggggctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc aactactgga tgcactgggt gaagcagagg 120

cctggacaag gccttgagtg gatcggagtg attgatcctt ctgatagtta tactacctac 180

aatcaaaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca catcctccag cacagcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtac aagaggtaac 300

tacggagtag actatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctcg 360

<210> 52
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 52
gacatccaga tgactcagtc tccagcttca ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60

atcacatgtg gagcaagtga gaatatttac ggtgctttaa attggtatca gcggaaacag 120
ggaaaatctc ctcagctcct gatctatggt gcaaccaact tggcagatgg catgtcatcg 180

aggttcagtg gcagtggatc tggtagacag tattctctca agatcagtag cctgcatcct 240

gacgatgttg caacgtatta ctgtcaaaat gtgttaatta ctccgtacac gttcggaggg 300

gggaccaagc tggaaataaa a 321

<210> 53
<211> 363
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 53
caggttcaac tgcagcagtc tggggctgag ctggtgaggc ctggggcttc agtgacgctg 60

tcctgcaagg cttcgggcta cacatttact gactatgaaa tgcactgggt gaagcagaca 120

cctgtgcatg gcctggaatg gattggagct attgatcctg aaactactag tactgcctac 180

aatcagaagt tcaagggcaa ggccacactg actgcagaca aatcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgccgtct attactgtac caaatgttac 300

tacggtagcg cggactatgc tatggactac tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 54
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 54
gacatccaga tgactcagtc tccagcttca ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60

atcacatgtg gagcaagtga gaatatttac ggtgctttaa attggtatca gcggaaacag 120

ggaaaatctc ctcagctcct gatctatggt gcaaccaact tggcagatgg catgtcatcg 180

aggttcagtg gcagtggatc tggtagacag tattctctca agatcagtag cctgcatcct 240

gacgatgttg caacgtatta ctgtcaaaat gtgttaagta ctccgtggac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa a 321

<210> 55
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 55
caggtccaac tgcagcagcc tggggctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagagg 120

cctggacaag gccttgagtg gatcggactg attgatcctt ctgataagta tactaactac 180

aatcaaaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca catcctccag cacagcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtac aagaggtaac 300

tacggagtag actatggtat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca 360

<210> 56
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 56
gacatccaga tgactcagtc tccagcttca ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60

atcacatgtg gagcaagtga gaatatttac ggtgctttaa attggtatca gcggaaacag 120

ggaaaatctc ctcagctcct gatctatggt gcaaccaact tggcagatgg catgtcatcg 180

aggttcagtg gcagtggatc tggtagacag tattctctca agatcagtag cctgcatcct 240

gacgatgttg caacgtatta ctgtcaaaat gtgttaagta ctccgtacac gttcggaggg 300

gggaccaagc tggaaataaa a 321

<210> 57
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 57
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

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

Ala Arg

<210> 58
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 58
Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10 15

<210> 59
<211> 96
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 59
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 Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

<210> 60
<211> 5
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Synthetic peptide

<400> 60
Asn Tyr Trp Met His
1 5

<210> 61
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 61
Ser Tyr Trp Met His
1 5

<210> 62
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 62
Ser Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 63
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 63
Val Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 64
<211> 17
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 64
Val Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 65
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 65
Leu Ile Asp Pro Ser Asp Lys Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 66
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

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

Gly

<210> 67
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 67
Gly Asn Tyr Gly Val Asp Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 68
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 68
Gly Asn Tyr Gly Val Asp Tyr Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 69
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 69
Glu Gly Asp Gly Tyr Ile Gln Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 70
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 70
Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala Leu Asn
1 5 10

<210> 71
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 71
Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala Leu Asn
1 5 10

<210> 72
<211> 11

<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 72
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 73
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 73
Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp
1 5

<210> 74
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 74
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 75
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 75
Gln Asn Val Leu Ile Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 76
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 77
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 77
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
1 5

<210> 78
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 78
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
1 5

<210> 79
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 79
Val Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Thr
1 5 10

<210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 80
Leu Ile Asp Pro Ser Asp Lys Tyr Thr Asn
1 5 10

<210> 81
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 81
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser
1 5 10

<210> 82
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 82
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83
<211> 107

<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 83
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 Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 84
<211> 70
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 84
Ala Ser Asn Phe Asp Cys Cys Leu Gly Tyr Thr Asp Arg Ile Leu His
1 5 10 15

Pro Lys Phe Ile Val Gly Phe Thr Arg Gln Leu Ala Asn Glu Gly Cys
20 25 30

Asp Ile Asn Ala Ile Ile Phe His Thr Lys Lys Lys Leu Ser Val Cys
35 40 45

Ala Asn Pro Lys Gln Thr Trp Val Lys Tyr Ile Val Arg Leu Leu Ser
50 55 60

Lys Lys Val Lys Asp Met
65 70

<210> 85
<211> 96
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 85
Met Cys Cys Thr Lys Ser Leu Leu Leu Ala Ala Leu Met Ser Val Leu
1 5 10 15

Leu Leu His Leu Cys Gly Glu Ser Glu Ala Ala Ser Asn Phe Asp Cys
20 25 30

Cys Leu Gly Tyr Thr Asp Arg Ile Leu His Pro Lys Phe Ile Val Gly
35 40 45

Phe Thr Arg Gln Leu Ala Asn Glu Gly Cys Asp Ile Asn Ala Ile Ile
50 55 60

Phe His Thr Lys Lys Lys Leu Ser Val Cys Ala Asn Pro Lys Gln Thr
65 70 75 80

Trp Val Lys Tyr Ile Val Arg Leu Leu Ser Lys Lys Val Lys Asn Met
85 90 95

<210> 86
<211> 96
<212> PRT
<213> Macaca mulatta

<400> 86
Met Cys Cys Thr Lys Ser Leu Leu Leu Ala Ala Leu Met Ser Val Leu
1 5 10 15

Leu Leu Tyr Leu Cys Ser Glu Ser Glu Ala Ala Ser Asn Phe Asp Cys
20 25 30

Cys Leu Arg Tyr Thr Asp Arg Ile Leu His Pro Lys Phe Ile Val Gly
35 40 45

Phe Thr Gln Gln Leu Ala Asn Glu Thr Cys Asp Ile Asn Ala Val Val
50 55 60

Phe His Thr Lys Lys Gly Leu Ser Val Cys Ala Asn Pro Lys Gln Thr
65 70 75 80

Trp Val Lys Leu Ile Val Arg Arg Leu Ser Lys Lys Ile Asn Lys Met
85 90 95

<210> 87
<211> 96
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 87
Met Cys Cys Ser Lys Ser Leu Leu Leu Ala Ala Leu Met Ser Val Leu
1 5 10 15

Leu Leu Tyr Leu Cys Ser Glu Ser Glu Ala Ala Ser Asn Phe Asp Cys
20 25 30

Cys Leu Arg Tyr Thr Asp Arg Ile Leu His Pro Lys Phe Ile Val Gly
35 40 45

Phe Thr Gln Gln Leu Ala Asn Glu Thr Cys Asp Ile Asn Ala Val Ile
50 55 60

Phe His Thr Lys Lys Gly Leu Ser Val Cys Ala Asn Pro Lys Gln Thr
65 70 75 80

Trp Val Lys Leu Ile Val Arg Arg Leu Ser Lys Lys Ile Asn Lys Met
85 90 95

<210> 88
<211> 95
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 88
Cys Gly Gly Lys Arg Leu Leu Phe Leu Ala Leu Ala Trp Val Leu Leu
1 5 10 15

Ala His Leu Cys Ser Gln Ala Glu Ala Ala Ser Asn Tyr Asp Cys Cys
20 25 30

Leu Ser Tyr Ile Gln Thr Pro Leu Pro Ser Arg Ala Ile Val Gly Phe
35 40 45

Thr Arg Gln Met Ala Asp Glu Ala Cys Asp Ile Asn Ala Ile Ile Phe
50 55 60

His Thr Lys Lys Arg Lys Ser Val Cys Ala Asp Pro Lys Gln Asn Trp
65 70 75 80

Val Lys Arg Ala Val Asn Leu Leu Ser Leu Arg Val Lys Lys Met
85 90 95

<210> 89
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 89
catttgcaca cctcaccatc 20

<210> 90

<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 90
tccgttgctt aacgtcatgt 20

<210> 91
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 91
cggcgtttac tacaggaagg 20

<210> 92
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 92
ttcttgctga ctggaggttg 20

<210> 93
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 93
gctggaaacc atgatcacct 20

<210> 94
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 94
ggtagtaagg gctggggaag 20

<210> 95
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 95
cagtgttggt ggtgggctat 20

<210> 96
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 96
ccgagccaag agagcatatc 20

<210> 97
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 97
caggccagac tttgttggat 20

<210> 98
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 98
ttgcgctcat cttaggcttt 20

<210> 99
<211> 70

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 99
Ala Ser Asn Phe Asp Cys Cys Leu Gly Tyr Thr Asp Arg Ile Leu His
1 5 10 15

Pro Lys Phe Ile Val Gly Phe Thr Arg Gln Leu Ala Asn Glu Gly Cys
20 25 30

Asp Ile Asn Ala Ile Ile Phe His Thr Lys Lys Lys Leu Ser Val Cys
35 40 45

Ala Asn Pro Lys Gln Thr Trp Val Lys Tyr Ile Val Arg Leu Leu Ser
50 55 60

Lys Lys Val Lys Asn Met
65 70

<210> 100
<211> 210
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 100
gcaagcaact ttgactgctg tcttggatac acagaccgta ttcttcatcc taaatttatt 60

gtgggcttca cacggcagct ggccaatgaa ggctgtgaca tcaatgctat catctttcac 120

acaaagaaaa agttgtctgt gtgcgcaaat ccaaaacaga cttgggtgaa atatattgtg 180

cgtctcctca gtaaaaaagt caagaacatg 210

<210> 101
<211> 288
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 101
atgtgctgta ccaagagttt gctcctggct gctttgatgt cagtgctgct actccacctc 60

tgcggcgaat cagaagcagc aagcaacttt gactgctgtc ttggatacac agaccgtatt 120

cttcatccta aatttattgt gggcttcaca cggcagctgg ccaatgaagg ctgtgacatc 180

aatgctatca tctttcacac aaagaaaaag ttgtctgtgt gcgcaaatcc aaaacagact 240

tgggtgaaat atattgtgcg tctcctcagt aaaaaagtca agaacatg 288

<210> 102
<211> 97
<212> PRT

<213> Mus musculus
<400> 102

```
Met Ala Cys Gly Gly Lys Arg Leu Leu Phe Leu Ala Leu Ala Trp Val
1               5                  10                  15

Leu Leu Ala His Leu Cys Ser Gln Ala Glu Ala Ala Ser Asn Tyr Asp
            20                  25                  30

Cys Cys Leu Ser Tyr Ile Gln Thr Pro Leu Pro Ser Arg Ala Ile Val
        35                  40                  45

Gly Phe Thr Arg Gln Met Ala Asp Glu Ala Cys Asp Ile Asn Ala Ile
    50                  55                  60

Ile Phe His Thr Lys Lys Arg Lys Ser Val Cys Ala Asp Pro Lys Gln
65                  70                  75                  80

Asn Trp Val Lys Arg Ala Val Asn Leu Leu Ser Leu Arg Val Lys Lys
                85                  90                  95

Met
```

<210> 103
<211> 291
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 103

```
atggcctgcg gtggcaagcg tctgctcttc cttgctttgg catgggtact gctggctcac      60

ctctgcagcc aggcagaagc agcaagcaac tacgactgtt gcctctcgta catacagacg     120

cctcttcctt ccagagctat tgtgggtttc acaagacaga tggccgatga agcttgtgac     180

attaatgcta tcatctttca cacgaagaaa agaaaatctg tgtgcgctga tccaaagcag     240

aactgggtga aaagggctgt gaacctcctc agcctaagag tcaagaagat g               291
```

<210> 104
<211> 374
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 104

```
Met Ser Gly Glu Ser Met Asn Phe Ser Asp Val Phe Asp Ser Ser Glu
1               5                  10                  15

Asp Tyr Phe Val Ser Val Asn Thr Ser Tyr Tyr Ser Val Asp Ser Glu
            20                  25                  30

Met Leu Leu Cys Ser Leu Gln Glu Val Arg Gln Phe Ser Arg Leu Phe
        35                  40                  45
```

Val Pro Ile Ala Tyr Ser Leu Ile Cys Val Phe Gly Leu Leu Gly Asn
50 55 60

Ile Leu Val Val Ile Thr Phe Ala Phe Tyr Lys Lys Ala Arg Ser Met
65 70 75 80

Thr Asp Val Tyr Leu Leu Asn Met Ala Ile Ala Asp Ile Leu Phe Val
85 90 95

Leu Thr Leu Pro Phe Trp Ala Val Ser His Ala Thr Gly Ala Trp Val
100 105 110

Phe Ser Asn Ala Thr Cys Lys Leu Leu Lys Gly Ile Tyr Ala Ile Asn
115 120 125

Phe Asn Cys Gly Met Leu Leu Leu Thr Cys Ile Ser Met Asp Arg Tyr
130 135 140

Ile Ala Ile Val Gln Ala Thr Lys Ser Phe Arg Leu Arg Ser Arg Thr
145 150 155 160

Leu Pro Arg Ser Lys Ile Ile Cys Leu Val Val Trp Gly Leu Ser Val
165 170 175

Ile Ile Ser Ser Ser Thr Phe Val Phe Asn Gln Lys Tyr Asn Thr Gln
180 185 190

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

Arg Trp Lys Leu Leu Met Leu Gly Leu Glu Leu Leu Phe Gly Phe Phe
210 215 220

Ile Pro Leu Met Phe Met Ile Phe Cys Tyr Thr Phe Ile Val Lys Thr
225 230 235 240

Leu Val Gln Ala Gln Asn Ser Lys Arg His Lys Ala Ile Arg Val Ile
245 250 255

Ile Ala Val Val Leu Val Phe Leu Ala Cys Gln Ile Pro His Asn Met
260 265 270

Val Leu Leu Val Thr Ala Ala Asn Leu Gly Lys Met Asn Arg Ser Cys
275 280 285

Gln Ser Glu Lys Leu Ile Gly Tyr Thr Lys Thr Val Thr Glu Val Leu
290 295 300

Ala Phe Leu His Cys Cys Leu Asn Pro Val Leu Tyr Ala Phe Ile Gly
305 310 315 320

Gln Lys Phe Arg Asn Tyr Phe Leu Lys Ile Leu Lys Asp Leu Trp Cys
325 330 335

Val Arg Arg Lys Tyr Lys Ser Ser Gly Phe Ser Cys Ala Gly Arg Tyr
340 345 350

Ser Glu Asn Ile Ser Arg Gln Thr Ser Glu Thr Ala Asp Asn Asp Asn
355 360 365

Ala Ser Ser Phe Thr Met
370

<210> 105
<211> 1122
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 105
atgagcgggg aatcaatgaa tttcagcgat gttttcgact ccagtgaaga ttattttgtg 60

tcagtcaata cttcatatta ctcagttgat tctgagatgt tactgtgctc cttgcaggag 120

gtcaggcagt tctccaggct atttgtaccg attgcctact ccttgatctg tgtctttggc 180

ctcctgggga atattctggt ggtgatcacc tttgcttttt ataagaaggc caggtctatg 240

acagacgtct atctcttgaa catggccatt gcagacatcc tctttgttct tactctccca 300

ttctgggcag tgagtcatgc caccggtgcg tgggttttca gcaatgccac gtgcaagttg 360

ctaaaaggca tctatgccat caactttaac tgcgggatgc tgctcctgac ttgcattagc 420

atggaccggt acatcgccat tgtacaggcg actaagtcat tccggctccg atccagaaca 480

ctaccgcgca gcaaaatcat ctgccttgtt gtgtgggggc tgtcagtcat catctccagc 540

tcaacttttg tcttcaacca aaaatacaac acccaaggca gcgatgtctg tgaacccaag 600

taccagactg tctcggagcc catcaggtgg aagctgctga tgttggggct tgagctactc 660

tttggtttct ttatcccttt gatgttcatg atattttgtt acacgttcat tgtcaaaacc 720

ttggtgcaag ctcagaattc taaaaggcac aaagccatcc gtgtaatcat agctgtggtg 780

cttgtgtttc tggcttgtca gattcctcat aacatggtcc tgcttgtgac ggctgcaaat 840

ttgggtaaaa tgaaccgatc ctgccagagc gaaaagctaa ttggctatac gaaaactgtc 900

acagaagtcc tggctttcct gcactgctgc ctgaaccctg tgctctacgc ttttattggg 960

cagaagttca gaaactactt tctgaagatc ttgaaggacc tgtggtgtgt gagaaggaag 1020

tacaagtcct caggcttctc ctgtgccggg aggtactcag aaaacatttc tcggcagacc 1080

agtgagaccg cagataacga caatgcgtcg tccttcacta tg 1122

<210> 106
<211> 367
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 106

```
Met Asn Ser Thr Glu Ser Tyr Phe Gly Thr Asp Asp Tyr Asp Asn Thr
1               5                  10                  15

Glu Tyr Tyr Ser Ile Pro Pro Asp His Gly Pro Cys Ser Leu Glu Glu
            20                  25                  30

Val Arg Asn Phe Thr Lys Val Phe Val Pro Ile Ala Tyr Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Cys Val Phe Gly Leu Leu Gly Asn Ile Met Val Val Met Thr Phe Ala
    50                  55                  60

Phe Tyr Lys Lys Ala Arg Ser Met Thr Asp Val Tyr Leu Leu Asn Met
65                  70                  75                  80

Ala Ile Thr Asp Ile Leu Phe Val Leu Thr Leu Pro Phe Trp Ala Val
                85                  90                  95

Thr His Ala Thr Asn Thr Trp Val Phe Ser Asp Ala Leu Cys Lys Leu
            100                 105                 110

Met Lys Gly Thr Tyr Ala Val Asn Phe Asn Cys Gly Met Leu Leu Leu
        115                 120                 125

Ala Cys Ile Ser Met Asp Arg Tyr Ile Ala Ile Val Gln Ala Thr Lys
    130                 135                 140

Ser Phe Arg Val Arg Ser Arg Thr Leu Thr His Ser Lys Val Ile Cys
145                 150                 155                 160

Val Ala Val Trp Phe Ile Ser Ile Ile Ile Ser Ser Pro Thr Phe Ile
                165                 170                 175

Phe Asn Lys Lys Tyr Glu Leu Gln Asp Arg Asp Val Cys Glu Pro Arg
            180                 185                 190

Tyr Arg Ser Val Ser Glu Pro Ile Thr Trp Lys Leu Leu Gly Met Gly
        195                 200                 205

Leu Glu Leu Phe Phe Gly Phe Phe Thr Pro Leu Leu Phe Met Val Phe
    210                 215                 220

Cys Tyr Leu Phe Ile Ile Lys Thr Leu Val Gln Ala Gln Asn Ser Lys
225                 230                 235                 240

Arg His Arg Ala Ile Arg Val Val Ile Ala Val Val Leu Val Phe Leu
                245                 250                 255
```

Ala Cys Gln Ile Pro His Asn Met Val Leu Leu Val Thr Ala Val Asn
260 265 270

Thr Gly Lys Val Gly Arg Ser Cys Ser Thr Glu Lys Val Leu Ala Tyr
275 280 285

Thr Arg Asn Val Ala Glu Val Leu Ala Phe Leu His Cys Cys Leu Asn
290 295 300

Pro Val Leu Tyr Ala Phe Ile Gly Gln Lys Phe Arg Asn Tyr Phe Met
305 310 315 320

Lys Ile Met Lys Asp Val Trp Cys Met Arg Arg Lys Asn Lys Met Pro
325 330 335

Gly Phe Leu Cys Ala Arg Val Tyr Ser Glu Ser Tyr Ile Ser Arg Gln
340 345 350

Thr Ser Glu Thr Val Glu Asn Asp Asn Ala Ser Ser Phe Thr Met
355 360 365

<210> 107
<211> 1101
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 107
atgaattcca cagagtccta ctttggaacg gatgattatg acaacacaga gtattattct 60

attcctccag accatgggcc atgctcccta gaagaggtca gaaacttcac caaggtattt 120

gtgccaattg cctactcctt aatatgtgtc tttggcctcc tgggcaacat tatggtggtg 180

atgacctttg ccttctacaa gaaagccaga tccatgactg acgtctacct gttgaacatg 240

gccatcacag acatactctt tgtcctcacc ctaccgttct gggcagttac tcatgccacc 300

aacacttggg ttttcagcga tgcactgtgt aaactgatga aaggcacata tgcggtcaac 360

tttaactgtg ggatgctgct cctggcctgt atcagcatgg accggtacat tgccatcgtc 420

caggcaacca aatctttccg ggtacgctcc agaacactga cgcacagtaa ggtcatctgt 480

gtggcagtgt ggttcatctc catcatcatc tcaagcccta catttatctt caacaagaaa 540

tacgagctgc aggatcgtga tgtctgtgag ccacggtaca ggtctgtctc agagcccatc 600

acgtggaagc tgctgggtat gggactggag ctgttctttg ggttcttcac ccctttgctg 660

tttatggtgt tctgctatct gttcattatc aagaccttgg tgcaggccca gaactccaag 720

aggcacagag caatccgagt cgtgatcgct gtggttctcg tgttcctggc ttgtcagatc 780

cctcacaaca tggtcctcct cgtgactgcg gtcaacacgg gcaaagtggg ccggagctgc 840
agcaccgaga aagtcctcgc ctacaccagg aacgtggccg aggtcctggc tttcctgcat 900

tgctgcctca accccgtgtt gtatgcgttt attggacaga aattcagaaa ctacttcatg 960

aagatcatga aggatgtgtg gtgtatgaga aggaagaata agatgcctgg cttcctctgt 1020

gcccgggttt actcggaaag ctacatctcc aggcagacca gtgagaccgt cgaaaatgat 1080

aatgcatcgt cctttaccat g 1101

<210> 108
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 108

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5				10				15			
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asn	Tyr
			20					25				30			
Trp	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Val	Ile	Asp	Pro	Ser	Asp	Ser	Tyr	Thr	Thr	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Val	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Gly	Asn	Tyr	Gly	Val	Asp	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
		115					120					125			
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
	130					135					140				
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145					150					155					160
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
				165					170					175	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro

```
                180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly Lys
    450


<210> 109
<211> 1353
```

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 109
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaaac ccggtgcaag tgtgaaggtg 60

tcatgtaaag catccggcta tacattcact aactactgga tgcattgggt gaggcaggct 120

ccaggacagg gactggaatg gatgggcgtg atcgaccctt cagattccta caccacatat 180

gcccagaagt ttcagggcag ggtgaccatg acagtggaca ctagcacctc tacagtgtac 240

atggagctgt ccagcctgag aagtgaagat acagcagtgt actattgcgc ccgcggcaat 300

tacggagtgg actatgccat ggattactgg gggcagggta ctctggtgac cgtgtctagt 360

gcttctacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 600

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 660

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 780

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200

ctggactccg acggctcctt cttcctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320

cagaagagcc tctccctgtc tcccgggaaa tga 1353

<210> 110

<211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 110

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	Glu	Asn	Ile	Tyr	Gly	Ala
			20					25					30		
Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Gly	Ala	Thr	Asn	Leu	Ala	Asp	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Arg	Gln	Tyr	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75					80
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Asn	Val	Leu	Ile	Thr	Pro	Tyr
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
			100					105					110		
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
		115					120					125			
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
	130					135					140				
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
145					150					155					160
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
				165					170					175	
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
			180					185					190		
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser
		195					200					205			
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys										
	210														

<210> 111
<211> 645
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 111
gacatccaga tgacccagtc tccatccagc ctgagtgcct cagtgggcga tagggtgact 60

atcacctgtc gggccagcga gaacatctac ggcgctctga attggtatca gcagaagcca 120

ggaaaagctc ccaagctgct gatctacggg gctacaaacc tggcagacgg tgtgcccagt 180

cgattctccg gtagcggctc tggacgacag tattcactga ctatctctag tctgcagcct 240

gaagatttcg ccacttacta ttgccagaat gtgctgatta ctccatatac ctttggcgga 300

gggacaaaac tggagatcaa gagaactgtg gccgctccca gtgtgttcat ttttcccct 360

tcagacgaac agctgaaatc agggaccgct tccgtggtgt gtctgctgaa caatttctac 420

cctcgcgagg caaaagtgca gtggaaggtg gataacgccc tgcagagtgg caattcacag 480

gagtccgtga ccgaacagga cagcaaagat tctacatata gtctgtcatc caccctgaca 540

ctgagcaagg ctgattacga gaagcacaaa gtgtatgcat gcgaagtgac tcatcagggg 600

ctgagctctc ccgtgaccaa gtcttttaac cggggtgaat gttga 645

<210> 112
<211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 112
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 Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 113
<211> 645
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 113
gacatccaga tgactcagag cccatccagc ctgtcagcct ccgtgggcga cagggtgacc 60

atcacatgtg gagcatccga gaacatctac ggggccctga attggtatca gaggaagccc 120

ggcaaagctc ctaagctgct gatctacggt gccacaaacc tggctgatgg cgtgccctcc 180

agattcagcg gctctggaag tgggcgcgac tatactctga ccatttctag tctgcagcca 240

gaggatttcg ccacctacta ttgccagaat gtgctgatca caccctacac ttttggtcag 300

ggcacaaaac tggaaattaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttga 645

<210> 114
<211> 56
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 114
Cys Cys Leu Gly Tyr Thr Asp Arg Ile Leu His Pro Lys Phe Ile Val
1 5 10 15

Gly Phe Thr Arg Gln Leu Ala Asn Glu Gly Cys Asp Ile Asn Ala Ile
20 25 30

Ile Phe His Thr Lys Lys Lys Leu Ser Val Cys Ala Asn Pro Lys Gln
35 40 45

Thr Trp Val Lys Tyr Ile Val Arg
50 55

<210> 115
<211> 53
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 115
Cys Cys Leu Lys Tyr Tyr Glu Lys Val Leu Pro Arg Arg Leu Val Val
1 5 10 15

Gly Tyr Arg Lys Ala Leu Asn Cys His Leu Pro Ala Ile Ile Phe Val
20 25 30

Thr Lys Arg Asn Arg Glu Val Cys Thr Asn Pro Asn Asp Asp Trp Val
35 40 45

Gln Glu Tyr Ile Lys
50

<210> 116
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 116
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 117
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 117
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

64

1 5 10

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA
RELACIÓN DE ANEXOS

Dependencia: 2020	Fecha: 2013 / 06 / 19 (AAAA / MM / DD)	Recorrido:
Tipo de Radicación: Entrada: X Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐		
Radicador:		Planilla:

ID	*No. Radicación*	*Consecutivo*	*Item*
1	13-145744-	0	
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***
X	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	**Otro**

Observaciones:

folio 328 CD.

Pathy

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 1068060008W1	FOR FURTHER ACTION	See Form PCT/IPEA/416
International application No. PCT/US11/61525	International filing date *(day/month/year)* 18 November 2011 (18.11.2011)	Priority date *(day/month/year)* 19 November 2010 (19.11.2010)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC IPC: Please See Continuation Sheet USPC: 530/388.1;424/145.1;536/23.53;435/335,320.1,69.1		
Applicant IMAI, TOSHIO		

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 6 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 0 sheets, as follows:
      ☐ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority, unless those sheets were superseded or cancelled, and any accompanying letters (see Rules 46.5, 66.8, 70.16, 91.2, and Section 607 of the Administrative Instructions).
      ☐ sheets containing rectifications, where the decision was made by this Authority not to take them into account because they were not authorized by or notified to this Authority at the time when this Authority began to draw up this report, and any accompanying letters (Rules 66.4*bis*, 70.2(e), 70.16 and 91.2).
      ☐ superseded sheets and any accompanying letters, where this Authority either considers that the superseding sheets contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, or the superseding sheets were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in item 4 of Box No.I and the Supplemental Box (see Rule 70.16(b)).
   b. ☐ *(sent to the International Bureau only)* a total of (indicate type and number of electronic carrier(s))
      _____ containing a sequence listing, in electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see paragraph 3*bis* of Annex C 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 and 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	Date of completion of this report
18 October 2012	15 November 2012 (15.11.2012)
Name and mailing address of the IPEA/ US Mail Stop PCT, Attn: IPEA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201	Authorized officer Prema Mertz Telephone No. 571-272-0876

Form PCT/IPEA/409 (cover sheet) (July 2011)

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/US11/61525

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 English which is the language of a translation furnished for the purposes of:

☐ international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).

☐ publication of the international application (Rule 12.4(a)).

☐ international preliminary examination (Rules 55.2(a) and/or 55.3(a) and (b)).

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)*:

☒ the international application as originally filed/furnished

☒ the description:
pages 1-104 as originally filed/furnished
pages* NONE received by this Authority on _____
pages* NONE received by this Authority on _____

☒ the claims:
pages 105-113 as originally filed/furnished
pages* NONE as amended (together with any statement) under Article 19
pages* NONE received by this Authority on _____
pages* NONE received by this Authority on _____

☒ the drawings:
pages 1-50 as originally filed/furnished
pages* NONE received by this Authority on _____
pages* NONE received by this Authority on _____

☒ a sequence listing - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.

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

☒ the description, pages NONE
☒ the claims, Nos. NONE
☒ the drawings, sheets/figs NONE
☒ the sequence listing (*specify*): NONE

4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since either they are considered to go beyond the disclosure as filed, or they were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rules 70.2(c) and(*c-bis*)):

☐ the description, pages _____
☐ the claims, Nos. _____
☐ the drawings, sheets/figs _____
☐ the sequence listing (*specify*): _____

5. ☐ This report has been established:

☐ taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rules 66.1(d-*bis*) and 70.2(e)).

☐ without taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rules 66.4*bis*) and 70.2(e)).

6. ☐ Supplementary international search report(s) from Authority(ies) _____ has/have been received and taken into account in establishing this report (Rule 45*bis*.8(b) and (c)).

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

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/US11/61525

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)	Claims 1-17, 32-33	YES
	Claims NONE	NO
Inventive Step (IS)	Claims 1-17	YES
	Claims 32-33	NO
Industrial Applicability (IA)	Claims 1-17, 32-33	YES
	Claims NONE	NO

2. Citations and Explanations (Rule 70.7)

Claims 32-33 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over WO 2009/156994 A1 to Peled et al, in view of US 2006/0263364 A1 to Vicari et al.

Peled discloses a monoclonal anti-human CCL20 antibody that binds to an epitope of human CCL20 (abstract; page 7; page 8, page 10, lines 25-31). Peled does not teach an antibody that binds to an epitope of human CCL20 comprisingcomprising one or more amino acid sequences selected from the group consisting of: a) residues 7-9 of SEQ ID NO: 84; b) residues 10-19 of SEQ ID NO: 84; and c) residues of 20-22 of SEQ ID NO: 84.
Vicari discloses a human CCL20 peptide sequence (para [0008] - 'protein sequences:.., human MIP-3.alpha. (SEQ ID NO: 10)', which consists 96 amino acid, and wherein 'MIP-3.alpha' is 'CCL20'; Please see Peled: pg 2, In 3 - 'CCL20, also known as ...MIP3a'), which comprises a region between amino acid residues 27-96, that is 100% identical to the claimed SEQ ID NO:84 (70 a.a.), which is the mature secreted CCL20 peptide (Please see RD_system_MAB360: Background - 'CCL20 cDNA encodes a 96 amino acid (aa) residue precursor protein with a 26 aa residue signal peptide that is predicted to be cleaved to form the 70 aa residue mature secreted protein').
Vicari further discloses a method of generating antibodies using a plurality of different lengths of antigenic peptide fragments from an antigenic peptide (para [0041] - 'A polypeptide ... "antigentic fragment" ...encompasses ...a stretch of contiguous amino acid residues of at least about 8 amino acids ... 20 ... 22 amino acids,.., the plurality will be at least two,. preferably 4, 5, 6, 7, or even more .... of various sizes....antigenic or immunogenic fragments ... use to raise binding composition, specifically antibodies').
Although Vicari does not specifically teach generating an antibody that binds to an epitope of human CCL20 comprising one or more amino acid sequences selected from the group consisting of: a) residues 7-9 of SEQ ID NO: 84; b) residues 10-19 of SEQ ID NO: 84; and c) residues of 20-22 of SEQ ID NO: 84, one of ordinary skill in the art at the time the invention was made would have known to map existing antibodies for their specific binding site(s) at CCL20 peptide disclosed by Vicari, or to generate anti-CCL20 antibody using different fragments of CCL22, based on the combination of Vicari and Peled, and followed by mapping specific amino acids in the fragment that are involved in the antibody binding by series deletion of the peptide fragments used for generating associated antibodies, based on the common practice in the art (Please see: ELLIOTT et al. Abstract; and pg 2707, Fig 3), in order to characterize the antibodies for targeting specific epitope(s) that are involved in CCR6 receptor signaling for facilitating choosing antibodies for treating different cancers with expected success (please see Peled: pg 2, In 9-11 - 'CCL20 is the unique chemokine ligand of its receptor CCR6. CCL20 expression ... in a varietyof human neoplasms, including.., melanoma'; Please also see Liao et al. Abstract), especially the full length CCL20 peptide consists only 70 amino acid residues (RD_system_MAB360: Background).
It would have been obvious to one of ordinary skill in the art at the time the invention was made to combine the teachings of Peled and Vicari, to obtain a monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, that binds to an epitope of human CCL20, as taught by Peled, and further wherein the antibody binds to an epitope of human CCL20 comprising one or more amino acid sequences selected from the group consisting of: a) residues 7-9 of SEQ ID NO: 84; b) residues'10-19 of SEQ ID NO: 84; and c) residues of 20-22 of SEQ ID NO: 84, based on the combination of Vicari and Peled and the common practice on antibody mapping in order to obtain antibodies with characterized binding specificity to identified CCL20 regions for facilitating choosing antibodies with a specified targeting site for treating different cancers with expected success.

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/US11/61525

Supplemental Box Relating to Sequence Listing

Continuation of Box No. 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 sequence listing filed or furnished:

a. (means)

☒ on paper

☒ in electronic form

b. (time)

☒ in the international application as filed

☒ together with the international application in electronic form

☐ subsequently to this Authority for the purposes of search and/or examination

☐ to this Authority as an amendment* on ____

2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing 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 sequence listing, which forms part of the basis of the report, may be marked "superseded."*

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/US11/61525

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.
Continuation of:

Continuation of IPC:
C07K 16/00(2006.01);**A61K 39/395**(2006.01);**C07H 21/04**(2006.01);**C12N 5/16**(2006.01),15/00(2006.01);**C12P 21/06**(2006.01)

---------- NEW CITATIONS ----------

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/US11/61525

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.
Continuation of:

Continuation of IPC:
C07K 16/00(2006.01);A61K 39/395(2006.01);C07H 21/04(2006.01);C12N 5/16(2006.01),15/00(2006.01);C12P 21/06(2006.01)

---------- NEW CITATIONS ----------

What is claimed is:

1. A monoclonal anti-human CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof, wherein said antibody comprises a heavy chain whose complementarity determining region 3 (CDR3) comprises SEQ ID NO: 67 or 68.

2. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of claim 1, wherein the complementarity determining region 1 (CDR1), complementarity determining region 2 (CDR2), and complementarity determining region 3 (CDR3) of said heavy chain respectively comprise amino acid sequences selected from the group consisting of:
   a) SEQ ID NOS: 60, 64, and 67;
   b) SEQ ID NOS: 60, 63, and 67;
   c) SEQ ID NOS: 61, 65, and 68;
   d) SEQ ID NOS: 77, 79, and 67; and
   e) SEQ ID NOS: 78, 80, and 68.

3. A monoclonal anti-human CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof, wherein said antibody comprises a light chain whose complementarity determining region 3 (CDR3) comprises SEQ ID NO: 75.

4. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of claim 3, wherein the complementarity determining region 1 (CDR1), complementarity determining region 2 (CDR2), and complementarity determining region 3 (CDR3) of said light chain respectively comprise amino acid sequences selected from the group consisting of:
   a) SEQ ID NOS: 70, 73, and 75; and
   b) SEQ ID NOS: 71, 73, and 75.

5. The antibody or antigen-binding portion of claim 1 or 3, wherein the heavy chain of said antibody comprises a CDR3 comprising SEQ ID NO: 67 or 68 and the light chain of said antibody comprises a CDR3 comprising SEQ ID NO: 75.

6. The antibody or antigen-binding portion according to claim 2 or 4, wherein said heavy chain CDR1, CDR2, and CDR3 and said light chain CDR1, CDR2, and CDR3 respectively comprise amino acid sequences selected from the group consisting of:
   a) SEQ ID NOS: 60, 64, 67, 70, 73, and 75;

b) SEQ ID NOS: 60, 64, 67, 71, 73, and 75;
c) SEQ ID NOS: 60, 63, 67, 70, 73, and 75;
d) SEQ ID NOS: 60, 63, 67, 71, 73, and 75;
e) SEQ ID NOS: 61, 65, 68, 70, 73, and 75;
f) SEQ ID NOS: 61, 65, 68, 71, 73, and 75;
g) SEQ ID NOS: 77, 79, 67, 70, 73, and 75;
h) SEQ ID NOS: 77, 79, 67, 71, 73, and 75;
i) SEQ ID NOS: 78, 80, 68, 70, 73, and 75; and
j) SEQ ID NOS: 78, 80, 68, 71, 73, and 75.

7. A monoclonal anti-human CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof, wherein said antibody comprises a heavy chain whose variable domain comprises an amino acid sequence selected from SEQ ID NOS: 9-14.

8. A monoclonal anti-human CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof, wherein said antibody comprises a light chain whose variable domain comprises SEQ ID NO: 15 or 16.

9. The antibody or antigen-binding portion according to claim 7 or 8, wherein said heavy chain variable domain and said light chain variable domain respectively comprise amino acid sequences selected from the group consisting of:
a) SEQ ID NOS: 9 and 15;
b) SEQ ID NOS: 9 and 16;
c) SEQ ID NOS: 10 and 16;
d) SEQ ID NOS: 11 and 15;
e) SEQ ID NOS: 11 and 16;
f) SEQ ID NOS: 12 and 16;
g) SEQ ID NOS: 13 and 16; and
h) SEQ ID NOS: 14 and 16.

10. A monoclonal anti-human CCL20 antibody whose heavy chain comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 1-6 without the signal sequence and SEQ ID NO: 108.

11. A monoclonal anti-human CCL20 antibody whose heavy chain comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 1-6 without the signal sequence and SEQ ID NO: 108, wherein said amino acid sequence lacks the C-terminal lysine.

12. A monoclonal anti-human CCL20 antibody whose light chain comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 7 and 8 without the signal sequence and SEQ ID NOS: 110 and 112.

13. The antibody according to any one of claims 10-12, wherein said heavy chain and said light chain respectively comprise amino acid sequences selected from the group consisting of:

a) SEQ ID NOS: 1 and 7;
b) SEQ ID NOS: 1 and 8;
c) SEQ ID NOS: 2 and 8;
d) SEQ ID NOS: 3 and 7;
e) SEQ ID NOS: 3 and 8;
f) SEQ ID NOS: 4 and 8;
g) SEQ ID NOS: 5 and 8;
h) SEQ ID NOS: 6 and 8;
i) SEQ ID NOS: 108 and 110; and
j) SEQ ID NOS: 108 and 112;

wherein said amino acid sequences lack signal sequences, if present, and wherein SEQ ID NOS: 1-6 optionally lack the C-terminal lysine.

14. A monoclonal antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 108 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 110.

15. A monoclonal antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 108 without the C-terminal lysine and whose light chain comprises SEQ ID NO: 110.

16. A monoclonal antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 108 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 112.

17. A monoclonal antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 108 without the C-terminal lysine and whose light chain comprises SEQ ID NO: 112.

18. A monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, that binds to the same epitope of human CCL20 as the monoclonal antibody or antigen-binding portion of any one of claims 1-17.

19. A monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, that competes for binding to human CCL20 with the monoclonal antibody or antigen-binding portion of any one of claims 1-17.

20. A monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, that cross-competes for binding to human CCL20 with the monoclonal antibody or antigen-binding portion of any one of claims 1-17.

21. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of any one of claims 1-12, wherein the antibody is a humanized antibody.

22. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of any one of claims 1-6, wherein the framework regions of said heavy chain utilize a IGHV1-46*03 human germline sequence, and wherein the framework regions of said light chain utilize a IGKV1D-39*01 human germline sequence.

23. The monoclonal antibody of any one of claims 1-9 and 18-22, wherein said antibody comprises a human IgG1, IgG2, IgG3, or IgG4 constant domain.

24. A monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, whose heavy chain comprises a variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 39, 41, and 43.

25. A monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, whose light chain comprises a variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 40, 42, and 44.

26. The antibody or antigen-binding portion of claim 24 or 25, wherein said heavy chain comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 39, 41, and 43 and wherein said light chain comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 40, 42, and 44.

27. The antibody of claim 26, wherein said heavy chain and said light chain respectively comprise amino acid sequences selected from the group consisting of:
    a) SEQ ID NOS: 39 and 40;
    b) SEQ ID NOS: 41 and 42; and
    c) SEQ ID NOS: 43 and 44.

28. A monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, wherein said antibody comprises a heavy chain comprising SEQ ID NO: 39 and a light chain comprising SEQ ID NO: 40.

29. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of any one of claims 24-28, wherein said antibody is a chimeric antibody.

30. The antigen-binding portion of any one of claims 1-9, 18-22, and 24-28, wherein said portion is a single chain antibody, Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fd, single chain Fv molecule (scFv), bispecific single chain Fv dimer, diabody, domain-deleted antibody or single domain antibody (dAb).

31. The monoclonal antibody or antigen-binding portion according to any one of claims 1-30, wherein said antibody or antigen-binding portion has one or more properties selected from the group consisting of:
    a) does not bind to human CCL16;
    b) binds to cynomolgus or rhesus CCL20, but not to mouse or rat CCL20;
    c) has a binding affinity for human CCL20 of 70 pM or less using a monovalent surface plasmon resonance assay;
    d) has a binding affinity for human CCL20 of 12 pM or less using a bivalent surface plasmon resonance assay;
    e) has a binding affinity for human CCL20 greater than that of human CCR6;
    f) has a selectivity for human CCL20 over human CX3CL1, CXCL1, CXCL2, CXCL4, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL12, CXCL13, CXCL16, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL11, CCL13, CCL16, CCL17, CCL19, CCL21, CCL22, CCL24, CCL25, CCL27, CCL28, or XCL1;
    g) reduces human CCL20-induced chemotaxis of CCR6+ cells with an IC_{50} of 1.7 nM or less;

h) reduces human CCL20-induced chemotaxis of CCR6+ cells *in vivo*

i) reduces human CCL20-induced chemotaxis of CCR6 + cells *in vitro*;

j) reduces progression of arthritis symptoms in a subject;

k) reduces osteoporosis, bone erosion, or new bone formation in a subject;

l) reduces cartilage oligomeric matrix protein (COMP) serum levels in a subject;

m) reduces mRNA levels of RANKL, RANK, TRAP, or cathepsin K in a subject;

n) reduces progression of atopic dermatitis in a subject; and

o) reduces progression of allergic contact dermatitis in a subject.

32. A monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, that binds to an epitope of human CCL20 comprising one or more amino acid sequences selected from the group consisting of:

a) residues 7-9 of SEQ ID NO: 84;

b) residues 10-19 of SEQ ID NO: 84; and

c) residues 20-22 of SEQ ID NO: 84.

33. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of claim 32, wherein said epitope comprises residues 7-9, 10-19, and 20-22 of SEQ ID NO: 84.

34. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of claim 32, wherein said epitope further comprises one or more amino acid sequences selected from the group consisting of:

a) residues 39-55 of SEQ ID NO: 84;

b) residues 56-67 of SEQ ID NO: 84; and

c) residues 61-70 of SEQ ID NO: 84.

35. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of claim 34, wherein said epitope comprises residues 7-9, 10-19, 20-22, 39-55, 56-67, and 61-70 of SEQ ID NO: 84.

36. An isolated nucleic acid molecule encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof of an antibody or portion according to any one of claims 1-35.

37. An isolated nucleic acid molecule encoding the light chain or an antigen-binding portion thereof of an antibody or portion according to any one of claims 1-35.

38. An isolated nucleic acid molecule encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof, and the light chain or an antigen-binding portion thereof, of an antibody or portion according to any one of claims 1-35.

39. An isolated nucleic acid molecule encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof of a monoclonal anti-human CCL20 antibody, wherein said nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 17-22, 25-30, and 109, or said nucleotide sequence without the sequence encoding a signal sequence, if present.

40. An isolated nucleic acid molecule encoding the light chain or an antigen-binding portion thereof of a monoclonal anti-human CCL20 antibody, wherein said nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 23, 24, 31, 32, 111, and 113, or said nucleotide sequence without the sequence encoding a signal sequence, if present.

41. The isolated nucleic acid molecule of claim 39 or 40, wherein said nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 17-22, 25-30, and 109, or said nucleotide sequence without the sequence encoding a signal sequence if present; and wherein said nucleic acid molecule further comprises a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 23, 24, 31, 32, 111, and 113, or said nucleotide sequence without the sequence encoding a signal sequence if present.

42. Use of (1) a nucleic acid sequence encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof, (2) a nucleic acid sequence encoding the light chain or an antigen-binding portion thereof, or (3) both, of an antibody or portion according to any one of claims 1-35, as a medicament.

43. A recombinant vector comprising (1) a nucleic acid sequence encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof, (2) a nucleic acid sequence encoding the light chain or an antigen-binding portion thereof, or (3) both, of an antibody or portion according to any one of claims 1-35.

44. A host cell comprising a first nucleic acid sequence encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof of an antibody or portion according to any one of claims 1-35, said

first nucleic acid sequence operably linked to an expression control element, and a second nucleic acid sequence encoding the light chain or an antigen-binding portion thereof of said antibody or portion, said second nucleic acid sequence operably linked to an expression control element.

45. A method of making an anti-human CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof, comprising maintaining the host cell of claim 44 under conditions appropriate for expression of the antibody or portion.

46. The method of claim 45, further comprising isolating the antibody or portion.

47. A composition comprising the monoclonal antibody or antigen-binding portion of any one of claims 1-35 and a pharmaceutically acceptable vehicle or carrier.

48. A method for treating a subject in need thereof, comprising administering to the subject an effective amount of the antibody or antigen-binding portion of any one of claims 1-35 or the composition of claim 47.

49. A method for treating a condition in a subject in need thereof, comprising administering to the subject an effective amount of the antibody or antigen-binding portion of any one of claims 1-35 or the composition of claim 47.

50. The method of claim 49, wherein said condition is a CCR6-associated condition.

51. The method of claim 49, wherein said condition is an autoimmune or inflammatory condition.

52. The method of claim 49, wherein said condition is rheumatoid arthritis, psoriasis, atopic dermatitis, contact dermatitis, Crohn's disease, inflammatory bowel disease, Grave's disease, vitiligo, hyperthyroidism, chronic hepatitis, human papillomavirus infection of the cervix, mycosis fungoides, osteoporosis, or periodontal disease.

53. A method for treating cancer, comprising administering to a subject an effective amount of the antibody or antigen-binding portion of any one of claims 1-35 or the composition of claim 47.

54. The method of claim 53, wherein said cancer is a B-cell malignancy, breast adenocarcinoma, glioblastoma, hepatocellular carcinoma, pancreatic adenocarcinoma, or thyroid papillary carcinoma.

55. A method for reducing CCL20-mediated chemotaxis of CCR6+ cells in a subject in need thereof, comprising administering to the subject the antibody or antigen-binding portion of any one of claims 1-35 or the composition of claim 47.

56. A method for reducing CCL20-mediated chemotaxis of CCR6+ cells *in vitro*, using the antibody or antigen-binding portion of any one of claims 1-35 or the composition of claim 47.

57. A method for treating a condition in a subject, comprising administering to the subject the antibody or antigen-binding portion of any one of claims 1-35 or the composition of claim 47, wherein said condition is selected from the group consisting of:

a) articular lesions of extremities distal to the elbow or knee;
b) erythema;
c) swelling;
d) increased cartilage oligomeric matrix protein (COMP) serum levels;
e) increased mRNA levels of receptor activator for nuclear factor κB ligand (RANKL), receptor activator for nuclear factor κB (RANK), tartrate resistant acid phosphatase (TRAP), or cathepsin K;
f) atopic dermatitis; and
g) allergic contact dermatitis.

58. Use of the antibody or antigen-binding portion of any one of claims 1-35 or the composition of claim 47 for the manufacture of a medicament.

59. Use of the antibody or antigen-binding portion of any one of claims 1-35 or the composition of claim 47 as a medicament.

1068060008W1

Neutralizing Anti-CCL20 Antibodies

[0001] This application claims priority from U.S. Provisional Patent Application No. 61/415,614, filed November 19, 2010. The disclosure of that application is incorporated by reference herein in its entirety.

Sequence Listing

[0001.1] The instant application contains a Sequence Listing which has been submitted in ASCII format via EFS-Web and is hereby incorporated by reference in its entirety. Said ASCII copy, created on December 14, 2011, is named 106806WO1.txt and is 113,712 bytes in size.

Field of the Invention

[0002] The present invention relates to novel humanized, chimeric and murine antibodies specifically directed against the human CC chemokine ligand 20 (CCL20). The humanized antibodies of the invention are particularly well-suited as therapeutics for the treatment of inflammatory and autoimmune diseases.

Background of the Invention

[0003] The immune system is a highly sophisticated bio-circuit used by the body to discriminate non-self (*e.g.*, foreign organisms or substances) from self. The detection of non-self in the body can result in inflammation, in which various cellular and molecular components are orchestrated to respond to potentially harmful events caused by the non-self organism or substance. Although the inflammatory process helps to protect the body from foreign attack, de-regulation of the immune system can lead to negative consequences such as self attack, *e.g.*, autoimmune disease. By altering the function of inflammatory molecules such as chemokines, it may be possible to reduce the initiation and progression of disorders relating to immune/inflammatory responses.

[0004] Chemokines are a family of small (8-10 kDa) proteins that play a pivotal role in inflammation. During the inflammatory process, chemokines are produced locally at the site of the noxious stimulus and work as central players to recruit immune cells that express their cognate receptors, seven trans-membrane G protein—coupled receptors (GPCRs). CCL20, alternatively named liver and activation-regulated chemokine (LARC), macrophage inflammatory protein-3 alpha (MIP-3α), or Exodus-1, is a soluble chemokine that is expressed by epithelial cells. Epithelial keratinocytes and synovium-lining cells are known to produce large amounts of CCL20 during homeostatic as well as inflammatory and pathological conditions such as cancer, psoriasis, and rheumatoid arthritis. The cognate receptor for CCL20 is CC chemokine receptor 6 (CCR6); CCL20 is the only chemokine known to interact with CCR6. In response to the CCL20 signal, immune cells possessing CCR6, such as immature dendritic cells (DC), effector/memory T-cells, and B-cells, migrate and infiltrate the surrounding tissues, thus activating the inflammatory cascade.

[0005] Because CCL20 expression is significantly enhanced in inflammation induced by inflammatory cytokines such as interleukin 1β (IL-1β) and tumor necrosis factor α (TNF-α), the CCL20-CCR6 interaction is thought to play a role in pathological inflammatory processes.

[0006] Rheumatoid Arthritis (RA) is one of the most common autoimmune diseases. The first sign of RA is often synovitis, which manifests as a swollen, painful joint. Although the specific factors that initiate synovitis remain unknown, synovium lining epithelial cells and synovial fibroblasts are thought to be primary inducers of the inflammatory reaction. Synovial fluid from RA patients effectively chemo-attracts human monocytes and pro-inflammatory T helper 17 (Th17) cells, which then induce and exacerbate the RA inflammatory process. Because reactive synovial cells are capable of producing large amounts of CCL20 (particularly under the influence of IL-1β and TNF-α), while CCR6 is the major receptor of Th17 cells, the CCL20-CCR6 interaction is thought to play a key role in the inflammatory process.

[0007] The CCL20-CCR6 interaction may also play an important role in certain types of dermatitis. Psoriasis, for example, initiates with a noxious psoriatic event in the skin (induced by environmental and/or genetic factors) followed by infiltration of Th17 cells. Because CCR6 is expressed on the surface of Th17 cells, B cells, dendritic cells, and tissue damaging effector T cells, CCL20 may represent the main chemoattractant for these cell types in psoriasis. Further evidence for the importance of the CCL20-CCR6 interaction can be found in studies using an interleukin 23 (IL-23)-induced mouse model of psoriasis (Hedrick *et al.*, *J. Clin. Invest.* **119**:2317-2329 (2009)). In this model, injection of IL-23 causes interleukin 22 (IL-22)-dependent psoriatic inflammation. However, *Ccr6*$^{-/-}$ mice did not exhibit psoriasis-like symptoms when injected with IL-23, indicating that CCR6 is required for the development of psoriasis.

[0008] Human keratinocytes can produce large amounts of CCL20, especially under the influence of the Th17-derived cytokines interleukin 17 (IL-17), IL-22, and TNF-α. While CCL20 and CCR6 are rarely detected in normal skin, both exhibit increased expression levels in atopic dermatitis and pustular psoriasis. Strong induction of CCL20 and accumulation of CCR6+ cells can be observed in microscopic immunohistochemical analysis of human dermatitis lesions. These observations provide additional evidence for the role of CCL20 and CCR6 in the dermatitis inflammatory process.

[0009] Currently available MAb biologics for treating immune disorders can be roughly classified into three groups: inhibitors of immunostimulatory cytokines (*e.g.*, anti-TNF-α MAbs), immune cell eliminators (*e.g.*, anti-CD20 MAbs), and blockers of accessory molecules (*e.g.* Abatacept). These biologics may be useful in the treatment of inflammatory diseases; however, due to primary non-responsiveness or a gradual decline in response rate to these treatments, there is an urgent need for alternative biologics with novel mechanisms of action to meet the medical needs of patients with, *e.g.*, CCL20/CCR6-mediated disorders. The antibodies of the subject invention represent such alternative biologics.

Summary of the Invention

[0010] The present invention relates to neutralizing anti-CCL20 antibodies, or antigen-binding portions thereof. In certain embodiments, the anti-CCL20 antibody is a humanized anti-human CCL20 antibody, which may comprise the complementarity determining regions (CDRs) of mouse anti-human CCL20 antibodies. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody is a mouse or chimeric anti-human CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof.

[0011] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof binds to human CCL20. In some embodiments, the antibody or portion does not bind to human CCL16.

[0012] The antibodies of the invention specifically bind CCL20. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof binds to cynomolgus and/or rhesus CCL20 as well as human CCL20. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof does not bind to mouse and/or rat CCL20. In one embodiment, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion binds to human, cynomolgus, and rhesus CCL20, but not to mouse and rat CCL20.

[0013] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof has a binding affinity (K_D) for human CCL20 of less than:

- 1 nM, 500 pM, 100 pM, 90 pM, 80 M, 70 pM, 60 pM, or 50 pM using a monovalent surface plasmon resonance assay, or
- 1 nM, 500 pM, 100 pM, 75 pM, 50 pM, 25 pM, 20 pM, 15 pM, 14 pM, 13 pM, 12 pM, 11 pM, 10 pM, 9 pM, 8 pM, 7 pM, 6 pM, or 5 pM using a bivalent surface plasmon resonance assay.

In certain embodiments, the antibody or portion has a binding affinity for human CCL20 greater than that of human CCR6.

[0014] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof has a k_a for human CCL20 of less than 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, or 30 ($x10^5$ M^{-1} sec^{-1}), as determined by bivalent surface plasmon resonance. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof has a k_d for human CCL20 of less than 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, or 3 ($x10^{-5}$ sec^{-1}), as determined by bivalent surface plasmon resonance.

[0015] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof has a k_a for rhesus CCL20 of less than 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, or 30 ($x10^5$ M^{-1} sec^{-1}), as determined by bivalent surface plasmon resonance. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof has a k_d for rhesus CCL20 of less than 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, or 2 ($x10^{-5}$ sec^{-1}), as determined by bivalent surface plasmon resonance. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof has a K_D for rhesus CCL20 of less than 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, or 10 pM, as determined by bivalent surface plasmon resonance.

[0016] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof has a k_a for cynomolgus CCL20 of less than 500, 400, 300, 200, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, or 30 ($x10^5$ M^{-1} sec^{-1}), as determined by bivalent surface plasmon resonance. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof has a k_d for cynomolgus CCL20 of less than 50, 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, or 6 ($x10^{-5}$ sec^{-1}), as determined by bivalent surface plasmon resonance. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof has a K_D for cynomolgus CCL20 of less than 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16, or 15 pM, as determined by bivalent surface plasmon resonance.

[0017] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof binds to human CCL20 with an EC_{50} of less than 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 39, 38, 37, 36, 35, or 34 pM. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof binds to rhesus CCL20 with an EC_{50} of less than 500, 400, 300, 200, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 90, 80, 70, 65, 60, 59, 58, 57, 56, 55, 54, 53, 52, 51, or 50 pM. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof binds to cynomolgus CCL20 with an EC_{50} of less than 500, 400, 350, 300, 250, 200, 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 110, 109, 108, 107, 106, 105, 104, 103, or 102 pM.

[0018] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof has a selectivity for human CCL20 over other human chemokines, including but not limited to CX3CL1, CXCL1, CXCL2, CXCL4, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL12, CXCL13, CXCL16, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL11, CCL13, CCL16, CCL17, CCL19, CCL21, CCL22, CCL24,

CCL25, CCL27, CCL28, and/or XCL1. In certain embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion has a selectivity for human CCL20 over all of said chemokines.

[0019] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof reduces human CCL20-induced chemotaxis of human or mouse CCR6+ cells with an IC_{50} of less than 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1.7, 1.6, 1.5, 1.4, 1.3, 1.2, or 1.1 nM. In certain embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof reduces human CCL20-induced chemotaxis of human or mouse CCR6+ cells with an IC_{50} of less than 1.7, 1.6, 1.5, 1.4, 1.3, 1.2, or 1.1 nM. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof reduces human CCL20-induced chemotaxis of human or mouse CCR6+ cells with an IC_{90} of less than 45, 40, 35, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5.5, 5.4, 5.3, 5.2, 5.1, 4.9, 4.8, 4.7, or 4.6 nM. In certain embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof reduces human CCL20-induced chemotaxis of human or mouse CCR6+ cells with an IC_{90} of less than 6, 5.5, 5.4, 5.3, 5.2, 5.1, 4.9, 4.8, 4.7, or 4.6 nM. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof reduces human CCL20-induced chemotaxis of human or mouse CCR6+ cells with an IC_{95} of less than 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8, or 7 nM. In certain embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof reduces human CCL20-induced chemotaxis of human or mouse CCR6+ cells with an IC_{95} of less than 10, 9.9, 9.8, 9.7, 9.6, 9.5, 9.4, 9.3, 9.2, 9.1, or 9 nM.

[0020] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof reduces human CCL20-induced chemotaxis of human or mouse CCR6+ cells *in vitro*.

[0021] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof reduces human CCL20-induced chemotaxis of human or mouse CCR6+ cells *in vivo*.

[0022] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof reduces the progression of arthritis symptoms (such as articular lesions of the extremities distal to the elbow or knee and degree of erythema and swelling) in a subject, *e.g.*, in a collagen-induced arthritis (CIA) and/or a glucose-6-phosphate isomerase (G6PI)-induced arthritis mouse model. In some embodiments, the antibody or antigen-binding portion thereof reduces bone lesions in a subject, including osteoporosis, bone erosion, and/or new bone formation, e.g,. in a CIA model. In some embodiments, the antibody or antigen-binding portion reduces cartilage oligomeric matrix protein (COMP) serum levels in a subject, *e.g.*, in a CIA model. In some embodiments, the antibody or antigen-binding portion thereof reduces mRNA levels of receptor activator for nuclear factor κB ligand (RANKL), receptor activator for nuclear factor κB (RANK), tartrate resistant acid phosphatase (TRAP), and/or cathepsin K in a subject, *e.g.*, in mouse paws in a CIA model. In some embodiments, the antibody or antigen-binding portion thereof reduces atopic dermatitis symptoms (*e.g.*, dryness, scale, erythema, oozing/crusting, and/or excoriation) in a subject, for example, symptoms of

oxazolone-induced atopic dermatitis in NC/Nga strain mice. In some embodiments, the antibody or antigen-binding portion reduces allergic contact dermatitis symptoms in a subject, for example, symptoms of dinitrofluorobenzene (DNFB)-induced allergic contact dermatitis in a mouse model.

[0023] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain whose CDR3 (H-CDR3) comprises the sequence of SEQ ID NO: 67 or 68.

[0024] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a light chain whose CDR3 (L-CDR3) comprises the sequence of SEQ ID NO 75.

[0025] In certain embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises an H-CDR3 whose sequence comprises SEQ ID NO: 67 and an L-CDR3 whose sequence comprises SEQ ID NO: 75; or an H-CDR3 whose sequence comprises SEQ ID NO: 68 and an L-CDR3 whose sequence comprises SEQ ID NO: 75.

[0026] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain whose CDR1 (H-CDR1), CDR2 (H-CDR2), and CDR3 (H-CDR3) respectively comprise the sequences of:

- SEQ ID NOS: 60, 63, and 67;
- SEQ ID NOS: 60, 64, and 67;
- SEQ ID NOS: 61, 65, and 68;
- SEQ ID NOS: 77, 79, and 67; or
- SEQ ID NOS: 78, 80, and 68.

[0027] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a light chain whose CDR1 (L-CDR1), CDR2 (L-CDR2), and CDR3 (L-CDR3) respectively comprise the sequences of:

- SEQ ID NOS: 70, 73, and 75; or
- SEQ ID NOS: 71, 73, and 75.

[0028] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises:

- an H-CDR1 comprising a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 60-62, 77, and 78;
- an H-CDR2 comprising a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 63-66 and 79-81;
- an H-CDR3 comprising the sequence of SEQ ID NO: 67 or 68;
- an L-CDR1 comprising a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 70-72;
- an L-CDR2 comprising the sequence of SEQ ID NO: 73 or 74; or
- an L-CDR3 comprising SEQ ID NO: 75;

or any combination thereof.

[0029] In certain embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises an H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, and L-CDR3 respectively comprising the sequences of:

- SEQ ID NOS: 60, 63, 67, 70, 73, and 75;
- SEQ ID NOS: 60, 64, 67, 70, 73, and 75 ;
- SEQ ID NOS: 61, 65, 68, 70, 73, and 75;
- SEQ ID NOS: 77, 79, 67, 70, 73, and 75;
- SEQ ID NOS: 78, 80, 68, 70, 73, and 75;
- SEQ ID NOS: 60, 63, 67, 71, 73, and 75;
- SEQ ID NOS: 60, 64, 67, 71, 73, and 75 ;
- SEQ ID NOS: 61, 65, 68, 71, 73, and 75;
- SEQ ID NOS: 77, 79, 67, 71, 73, and 75; or
- SEQ ID NOS: 78, 80, 68, 71, 73, and 75.

[0030] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain variable domain comprising a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 9-14. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain variable domain comprising a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 39, 41, and 43.

[0031] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a light chain variable domain comprising the sequence of SEQ ID NO: 15 or 16. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a light chain variable domain comprising a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 40, 42, and 44.

[0032] In certain embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain variable domain and a light chain variable domain respectively comprising the sequences of:

- SEQ ID NO: 9 and SEQ ID NO: 15;
- SEQ ID NO: 10 and SEQ ID NO: 15;
- SEQ ID NO: 11 and SEQ ID NO: 15;
- SEQ ID NO: 12 and SEQ ID NO: 15;
- SEQ ID NO: 13 and SEQ ID NO: 15;
- SEQ ID NO: 14 and SEQ ID NO: 15;
- SEQ ID NO: 9 and SEQ ID NO: 16;
- SEQ ID NO: 10 and SEQ ID NO: 16;

- SEQ ID NO: 11 and SEQ ID NO: 16;
- SEQ ID NO: 12 and SEQ ID NO: 16;
- SEQ ID NO: 13 and SEQ ID NO: 16; or
- SEQ ID NO: 14 and SEQ ID NO: 16.

[0033] In certain embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain variable domain and a light chain variable domain respectively comprising the sequences of:

- SEQ ID NO: 39 and SEQ ID NO: 40;
- SEQ ID NO: 39 and SEQ ID NO: 42;
- SEQ ID NO: 39 and SEQ ID NO: 44;
- SEQ ID NO: 41 and SEQ ID NO: 40;
- SEQ ID NO: 41 and SEQ ID NO: 42;
- SEQ ID NO: 41 and SEQ ID NO: 44;
- SEQ ID NO: 43 and SEQ ID NO: 40;
- SEQ ID NO: 43 and SEQ ID NO: 42; or
- SEQ ID NO: 43 and SEQ ID NO: 44.

[0034] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain having a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 1-6 and 108 without the signal sequence (if present), and optionally without the C-terminal lysine. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a light chain having a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 7, 8, 110, and 112 without the signal sequence (if present). In certain embodiments, the anti-CCL20 antibody comprises a heavy chain and a light chain respectively having the sequences of:

- SEQ ID NO: 1 and SEQ ID NO: 7;
- SEQ ID NO: 2 and SEQ ID NO: 7;
- SEQ ID NO: 3 and SEQ ID NO: 7;
- SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 7;
- SEQ ID NO: 5 and SEQ ID NO: 7;
- SEQ ID NO: 6 and SEQ ID NO: 7;
- SEQ ID NO: 1 and SEQ ID NO: 8;
- SEQ ID NO: 2 and SEQ ID NO: 8;
- SEQ ID NO: 3 and SEQ ID NO: 8;
- SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 8;
- SEQ ID NO: 5 and SEQ ID NO: 8;
- SEQ ID NO: 6 and SEQ ID NO: 8;

- SEQ ID NO: 108 and SEQ ID NO: 110; or
- SEQ ID NO: 108 and 112;

both of said sequences without the signal sequence, SEQ ID NOS: 1-6 and 108 optionally without the C-terminal lysine.

[0035] The present invention also provides an anti-CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof that comprises a heavy chain variable domain encoded by a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 25-30. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain variable domain encoded by a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 51, 53, and 55.

[0036] Further, the present invention provides an anti-CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof that comprises a light chain variable domain encoded by the sequence of SEQ ID NO: 31 or 32. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a light chain variable domain encoded by a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 52, 54, and 56.

[0037] In certain embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain variable domain and a light chain variable domain respectively encoded by the sequences of:

- SEQ ID NO: 25 and SEQ ID NO: 31;
- SEQ ID NO: 26 and SEQ ID NO: 31;
- SEQ ID NO: 27 and SEQ ID NO: 31;
- SEQ ID NO: 28 and SEQ ID NO: 31;
- SEQ ID NO: 29 and SEQ ID NO: 31;
- SEQ ID NO: 30 and SEQ ID NO: 31;
- SEQ ID NO: 25 and SEQ ID NO: 32;
- SEQ ID NO: 26 and SEQ ID NO: 32;
- SEQ ID NO: 27 and SEQ ID NO: 32;
- SEQ ID NO: 28 and SEQ ID NO: 32;
- SEQ ID NO: 29 and SEQ ID NO: 32; or
- SEQ ID NO: 30 and SEQ ID NO: 32.

[0038] In certain embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain variable domain and a light chain variable domain respectively encoded by the sequences of:

- SEQ ID NO: 51 and SEQ ID NO: 52;
- SEQ ID NO: 51 and SEQ ID NO: 54;
- SEQ ID NO: 51 and SEQ ID NO: 56;

- SEQ ID NO: 53 and SEQ ID NO: 52;
- SEQ ID NO: 53 and SEQ ID NO: 54;
- SEQ ID NO: 53 and SEQ ID NO: 56;
- SEQ ID NO: 55 and SEQ ID NO: 52;
- SEQ ID NO: 55 and SEQ ID NO: 54; or
- SEQ ID NO: 55 and SEQ ID NO: 56.

[0039] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a heavy chain encoded by a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 17-22 and 109, said sequence lacking the sequence encoding a signal sequence (if present) and optionally lacking the sequence encoding the C-terminal lysine. In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof comprises a light chain encoded by a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 23, 24, 111, and 113, said sequence lacking the sequence encoding a signal sequence (if present). In certain embodiments, the anti-CCL20 antibody comprises a heavy chain and a light chain respectively encoded by the sequences of:

- SEQ ID NO: 17 and SEQ ID NO: 23;
- SEQ ID NO: 18 and SEQ ID NO: 23;
- SEQ ID NO: 19 and SEQ ID NO: 23;
- SEQ ID NO: 20 and SEQ ID NO: 23;
- SEQ ID NO: 21 and SEQ ID NO: 23;
- SEQ ID NO: 22 and SEQ ID NO: 23;
- SEQ ID NO: 17 and SEQ ID NO: 24;
- SEQ ID NO: 18 and SEQ ID NO: 24;
- SEQ ID NO: 19 and SEQ ID NO: 24;
- SEQ ID NO: 20 and SEQ ID NO: 24;
- SEQ ID NO: 21 and SEQ ID NO: 24;
- SEQ ID NO: 22 and SEQ ID NO: 24;
- SEQ ID NO: 109 and SEQ ID NO: 111; or
- SEQ ID NO: 109 and SEQ ID NO: 113;

both of said sequences lacking the sequence encoding a signal sequence (if present), SEQ ID NOS: 17-22 and 109 optionally lacking the sequence encoding the C-terminal lysine.

[0040] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof is humanized or chimeric. In some embodiments, the framework regions of the heavy chain of the humanized anti-CCL20 antibody or portion utilize an IGHV1-46*03 human germline gene (See, *e.g.*, Altschul et al., "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997)). In certain embodiments, the heavy chain

framework regions have at least 50% homology to the framework regions of the IGHV1-46*03 human germline gene. For example, the heavy chain framework regions may be at least 50%, at least 60%, at least 70%, at least 80%, at least 90%, at least 95%, at least 98%, at least 99%, or even 100% identical to the framework regions of the IGHV1-46*03 human germline gene. In some embodiments, the framework regions of the light chain of the humanized anti-CCL20 antibody or portion utilize an IGKV1D-39*01 human germline gene (see Altschul et al., *supra*). In certain embodiments, the light chain framework regions have at least 50% homology to the framework regions of the IGKV1D-39*01 human germline gene. For example, the light chain framework regions may be at least 50%, at least 60%, at least 70%, at least 80%, at least 90%, at least 95%, at least 98%, at least 99%, or even 100% identical to the framework regions of the IGKV1D-39*01 human germline gene.

[0041] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof (to the extent that said portion comprises at least part of a heavy chain constant region) is an IgG, an IgM, an IgE, an IgA, or an IgD molecule. In certain embodiments, the anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof is of the IgG1, IgG2, IgG3, or IgG4 subtype.

[0042] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody is a monoclonal antibody.

[0043] The present invention also provides an anti-CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof that binds to an epitope of human CCL20 located in the N-loop and/or β2-β3 hairpin region of the molecule. In some embodiments, said anti-CCL20 antibody or portion binds to the same epitope on human CCL20 as an antibody or portion as described herein. Further, the present invention provides an anti-CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof that competes or cross-competes for binding to human CCL20 with an antibody or portion described herein.

[0044] In some embodiments, the human CCL20 epitope bound by the antibody or antigen-binding portion thereof of the invention comprises one or more amino acid sequences selected from the group consisting of:

- residues 7-9 of SEQ ID NO: 84;
- residues 10-19 of SEQ ID NO: 84;
- residues 20-21 of SEQ ID NO: 84; and
- residues 20-22 of SEQ ID NO: 84,

or the residues of wild-type human CCL20 corresponding to said residues of SEQ ID NO: 84.

[0045] In some embodiments, said human CCL20 epitope further comprises one or more amino acid sequences selected from the group consisting of:

- residues 39-55 of SEQ ID NO: 84;
- residues 39-57 of SEQ ID NO: 84;
- residues 56-67 of SEQ ID NO: 84; and

- residues 61-70 of SEQ ID NO: 84,

or the residues of wild-type human CCL20 corresponding to said residues of SEQ ID NO: 84.

[0046] In certain embodiments, said human CCL20 epitope comprises any combination of the amino acid sequences consisting of residues 7-9, 10-19, 20-22, 39-55, 56-57, and 61-70 of SEQ ID NO: 84, or the residues of wild-type human CCL20 corresponding to said residues of SEQ ID NO: 84.

[0047] In certain embodiments, said human CCL20 epitope comprises residues 7-9, 10-19, and 20-22 of SEQ ID NO: 84, or the residues of wild-type human CCL20 corresponding to said residues of SEQ ID NO: 84. In certain embodiments, said human CCL20 epitope comprises residues 7-9, 10-19, 20-22, 39-55, 56-57, and 61-70 of SEQ ID NO: 84, or the residues of wild-type human CCL20 corresponding to said residues of SEQ ID NO: 84. In certain embodiments, said human CCL20 epitope comprises residues 7-9, 10-19, 20-22, 39-57, and 61-70 of SEQ ID NO: 84, or the residues of wild-type human CCL20 corresponding to said residues of SEQ ID NO: 84.

[0048] In certain embodiments, said human CCL20 epitope comprises residues 7-9, 10-19, and 20-21 of SEQ ID NO: 84, or the residues of wild-type human CCL20 corresponding to said residues of SEQ ID NO: 84. In certain embodiments, said human CCL20 epitope comprises residues 7-9, 10-19, 20-21, 39-55, 56-67, and 61-70 of SEQ ID NO: 84, or the residues of wild-type human CCL20 corresponding to said residues of SEQ ID NO: 84. In certain embodiments, said human CCL20 epitope comprises residues 7-9, 10-19, 20-21, 39-57, and 61-70 of SEQ ID NO: 84, or the residues of wild-type human CCL20 corresponding to said residues of SEQ ID NO: 84.

[0049] In some embodiments, the human CCL20 epitope bound by the antibody or antigen-binding portion thereof comprises one or more amino acid residues of SEQ ID NO: 84 (or the residues of wild-type human CCL20 corresponding to said residues of SEQ ID NO: 84) selected from residues 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, and 70, or any combination thereof.

[0050] The present invention also provides an antigen-binding portion of any of the anti-CCL20 antibodies described herein. Said antigen-binding portion may be, *e.g.*, a single chain antibody, Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fd, single chain Fv molecule (scFv), bispecific single chain Fv dimer, polyvalent single chain Fv multimer, diabody, domain-deleted antibody, or single domain antibody (dAb).

[0051] The present invention also provides a variant of an antibody or antigen-binding portion as described herein, wherein said variant differs from the antibody or portion by 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 or 10 amino acid substitutions.

[0052] In one aspect, the present invention provides an antibody directed against human CCL20, wherein the heavy chain variable domain and the light chain variable domain of said antibody respectively comprise the sequences of:

- SEQ ID NOS: 9 and 15;
- SEQ ID NOS: 9 and 16;
- SEQ ID NOS: 10 and 16;
- SEQ ID NOS: 11 and 15;
- SEQ ID NOS: 11 and 16;
- SEQ ID NOS: 12 and 16;
- SEQ ID NOS: 13 and 16; or
- SEQ ID NOS: 14 and 16.

[0053] In one aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 1 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 7, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0054] In another aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 1 without the C-terminal lysine and whose light chain comprises SEQ ID NO: 7, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0055] In one aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 1 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 8, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0056] In another aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 1 without the C-terminal lysine and whose light chain comprises SEQ ID NO: 8, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0057] In one aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 2 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 8, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0058] In another aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 2 without the C-terminal lysine and whose light chain comprises SEQ ID NO: 8, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0059] In one aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 3 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 7, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0060] In another aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 3 without the C-terminal lysine and whose light chain comprises SEQ ID NO: 7, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0061] In one aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 3 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 8, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0062] In another aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 3 without the C-terminal lysine and whose light chain comprises SEQ ID NO: 8, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0063] In one aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 4 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 8, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0064] In another aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 4 without the C-terminal lysine and whose light chain comprises SEQ ID NO: 8, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0065] In one aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 5 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 8, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0066] In another aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 5 without the C-terminal lysine and whose light chain comprises SEQ ID NO: 8, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0067] In one aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 6 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 8, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0068] In another aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 6 without the C-terminal lysine and whose light chain comprises SEQ ID NO: 8, wherein said amino acid sequences lack signal sequences.

[0069] In one aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 108 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 110.

[0070] In another aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 108 without the C-terminal lysine and whose light chain comprises SEQ ID NO: 110.

[0071] In one aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 108 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 112.

[0072] In another aspect, the present invention provides an antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 108 without the C-terminal lysine and whose light chain comprises SEQ ID NO: 112.

[0073] In another aspect, the present invention provides one or more nucleic acid molecules, *e.g.*, isolated nucleic acid molecules, encoding a heavy chain or an antigen-binding portion thereof or a light chain or an antigen-binding portion thereof, wherein said heavy chain and light chain or antigen-binding portions thereof may associate to form an anti-CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof. In some embodiments, the nucleic acid molecule encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof comprises a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ

ID NOS: 17-22, 25-30, and 109, or said nucleotide sequence without the sequence encoding a signal sequence, if present. The nucleotide sequences of SEQ ID NOS: 17-22 and 109 may also optionally lack the sequence encoding the C-terminal lysine, if present. In some embodiments, the nucleic acid molecule encoding the light chain or an antigen-binding portion thereof comprises a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 23, 24, 31, 32, 111, and 113, or said nucleotide sequence without the sequence encoding a signal sequence, if present. In some embodiments, the one or more nucleic acid molecules encode the heavy chain or an antigen-binding portion thereof and the light chain or an antigen-binding portion thereof of an antibody or portion as described herein. In certain embodiments, one nucleic acid molecule encodes both said heavy chain or an antigen-binding portion thereof and said light chain or an antigen-binding portion thereof.

[0074] In one embodiment, the nucleic acid molecule encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof, the nucleic acid molecule encoding the light chain or an antigen-binding portion thereof, or nucleic acid molecule(s) encoding the heavy chain and the light chain or antigen-binding portions thereof, are used for treating a subject in need thereof.

[0075] In another aspect, the present invention provides a vector comprising nucleic acid sequence(s) encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof, the light chain or an antigen-binding portion thereof, or both, of an antibody or portion as described herein.

[0076] In another aspect, the present invention provides a cell expressing the heavy chain or an antigen-binding portion thereof, the light chain or an antigen-binding portion thereof, or both, of an antibody or portion as described herein.

[0077] In another aspect, the present invention provides a method for making an antibody or portion as described herein, comprising maintaining a cell as described herein under conditions appropriate for expression of the antibody or portion. In some embodiments, the method comprises the step of isolating the antibody or portion.

[0078] The present invention also provides a method of producing a hybridoma that secretes an anti-CCL20 antibody. In certain embodiments, the hybridoma produces an antibody that binds to wild-type human CCL20. The invention also provides a hybridoma produced by the methods of the invention. Optionally, the monoclonal antibody secreted by the hybridoma is collected and can be further purified (*e.g.*, substantially purified, isolated). In other embodiments, the method further comprises determining the nucleotide sequence of the monoclonal antibody secreted by the hybridoma.

[0079] In another aspect, the present invention provides a composition comprising an antibody or portion as described herein and a pharmaceutically acceptable vehicle or carrier.

[0080] In one aspect, the antibody or portion as described herein is used as a medicament. In certain embodiments, the antibody or portion as described herein is used for treating a subject in need thereof.

In particular embodiments, the antibody or portion is used to treat a CCR6-associated condition, a CCL20 associated condition or both. Such conditions include but are not limited to inflammatory and auto-immune diseases, particularly arthritis, especially rheumatoid arthritis, atopic or allergic dermatitis, and psoriasis. In another particular embodiment, the antibody or portion is used to treat cancer. The antibody or portion may be used to treat, *e.g.*, Grave's disease, vitiligo, hyperthyroidism, rheumatoid arthritis, psoriasis, atopic dermatitis, contact dermatitis, Crohn's disease, inflammatory bowel disease, B-cell malignancies, breast adenocarcinoma, chronic hepatitis, contact dermatitis, glioblastoma, hepatocellular carcinoma, human papillomavirus infection of the cervix, mycosis fungoides, pancreatic adenocarcinoma, periodontal disease, thyroid papillary carcinoma, pustulosis palmaris et plantaris, conditions associated with maculopapular exanthema, epidermolysis bullosa, alopecia areata, multiple sclerosis, polymyositis, dermatomyositis, Behcet's disease, acute generalized exanthematous pustulosis, vasculitides, juvenile idiopathic arthritis, sarcoidosis, bronchial asthma, allergic rhinitis, renal allograft rejection, graft-versus-host disease, liver allograft rejection, chronic obstructive pulmonary disease, cystic fibrosis, glomerulonephritis, respiratory syncytial virus infection, multiple myeloma, and/or Langerhans cell histiocytosis.

[0081] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody or portion is used to reduce CCL20-mediated chemotaxis of CCR6+ cells in a subject in need thereof.

[0082] In some embodiments, the present invention provides:

1. A monoclonal anti-human CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof, wherein said antibody comprises a heavy chain whose complementarity determining region 3 (CDR3) comprises SEQ ID NO: 67 or 68.

2. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of embodiment 1, wherein the complementarity determining region 1 (CDR1), complementarity determining region 2 (CDR2), and complementarity determining region 3 (CDR3) of said heavy chain respectively comprise amino acid sequences selected from the group consisting of:
   a) SEQ ID NOS: 60, 64, and 67;
   b) SEQ ID NOS: 60, 63, and 67;
   c) SEQ ID NOS: 61, 65, and 68;
   d) SEQ ID NOS: 77, 79, and 67; and
   e) SEQ ID NOS: 78, 80, and 68.

3. A monoclonal anti-human CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof, wherein said antibody comprises a light chain whose complementarity determining region 3 (CDR3) comprises SEQ ID NO: 75.

4. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of embodiment 3, wherein the complementarity determining region 1 (CDR1), complementarity determining region 2 (CDR2), and complementarity determining region 3 (CDR3) of said light chain respectively comprise amino acid sequences selected from the group consisting of:
   a) SEQ ID NOS: 70, 73, and 75; and
   b) SEQ ID NOS: 71, 73, and 75.

5. The antibody or antigen-binding portion of embodiment 1 or 3, wherein the heavy chain of said antibody comprises a CDR3 comprising SEQ ID NO: 67 or 68 and the light chain of said antibody comprises a CDR3 comprising SEQ ID NO: 75.

6. The antibody or antigen-binding portion according to embodiment 2 or 4, wherein said heavy chain CDR1, CDR2, and CDR3 and said light chain CDR1, CDR2, and CDR3 respectively comprise amino acid sequences selected from the group consisting of:
   a) SEQ ID NOS: 60, 64, 67, 70, 73, and 75;
   b) SEQ ID NOS: 60, 64, 67, 71, 73, and 75;
   c) SEQ ID NOS: 60, 63, 67, 70, 73, and 75;
   d) SEQ ID NOS: 60, 63, 67, 71, 73, and 75;
   e) SEQ ID NOS: 61, 65, 68, 70, 73, and 75;
   f) SEQ ID NOS: 61, 65, 68, 71, 73, and 75;
   g) SEQ ID NOS: 77, 79, 67, 70, 73, and 75;
   h) SEQ ID NOS: 77, 79, 67, 71, 73, and 75;
   i) SEQ ID NOS: 78, 80, 68, 70, 73, and 75; and
   j) SEQ ID NOS: 78, 80, 68, 71, 73, and 75.

7. A monoclonal anti-human CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof, wherein said antibody comprises a heavy chain whose variable domain comprises an amino acid sequence selected from SEQ ID NOS: 9-14.

8. A monoclonal anti-human CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof, wherein said antibody comprises a light chain whose variable domain comprises SEQ ID NO: 15 or 16.

9. The antibody or antigen-binding portion according to embodiment 7 or 8, wherein said heavy chain variable domain and said light chain variable domain respectively comprise amino acid sequences selected from the group consisting of:
   a) SEQ ID NOS: 9 and 15;
   b) SEQ ID NOS: 9 and 16;
   c) SEQ ID NOS: 10 and 16;
   d) SEQ ID NOS: 11 and 15;
   e) SEQ ID NOS: 11 and 16;
   f) SEQ ID NOS: 12 and 16;
   g) SEQ ID NOS: 13 and 16; and
   h) SEQ ID NOS: 14 and 16.

10. A monoclonal anti-human CCL20 antibody whose heavy chain comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 1-6 without the signal sequence and SEQ ID NO: 108.

11. A monoclonal anti-human CCL20 antibody whose heavy chain comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 1-6 without the signal sequence and SEQ ID NO: 108, wherein said amino acid sequence lacks the C-terminal lysine.

12. A monoclonal anti-human CCL20 antibody whose light chain comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 7 and 8 without the signal sequence and SEQ ID NOS: 110 and 112.

13. The antibody according to any one of embodiments 10-12, wherein said heavy chain and said light chain respectively comprise amino acid sequences selected from the group consisting of:
   a) SEQ ID NOS: 1 and 7;
   b) SEQ ID NOS: 1 and 8;
   c) SEQ ID NOS: 2 and 8;
   d) SEQ ID NOS: 3 and 7;
   e) SEQ ID NOS: 3 and 8;
   f) SEQ ID NOS: 4 and 8;
   g) SEQ ID NOS: 5 and 8;
   h) SEQ ID NOS: 6 and 8;
   i) SEQ ID NOS: 108 and 110; and

j) SEQ ID NOS: 108 and 112;

wherein said amino acid sequences lack signal sequences, if present, and wherein SEQ ID NOS: 1-6 optionally lack the C-terminal lysine.

14. A monoclonal antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 108 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 110.

15. A monoclonal antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 108 without the C-terminal lysine and whose light chain comprises SEQ ID NO: 110.

16. A monoclonal antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 108 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 112.

17. A monoclonal antibody whose heavy chain comprises SEQ ID NO: 108 without the C-terminal lysine and whose light chain comprises SEQ ID NO: 112.

18. A monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, that binds to the same epitope of human CCL20 as the monoclonal antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 1-17.

19. A monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, that competes for binding to human CCL20 with the monoclonal antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 1-17.

20. A monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, that cross-competes for binding to human CCL20 with the monoclonal antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 1-17.

21. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 1-12, wherein the antibody is a humanized antibody.

22. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 1-6, wherein the framework regions of said heavy chain utilize a IGHV1-46*03 human germline sequence, and wherein the framework regions of said light chain utilize a IGKV1D-39*01 human germline sequence.

23. The monoclonal antibody of any one of embodiments 1-9 and 18-22, wherein said antibody comprises a human IgG1, IgG2, IgG3, or IgG4 constant domain.

24. A monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, whose heavy chain comprises a variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 39, 41, and 43.

25. A monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, whose light chain comprises a variable domain comprising an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 40, 42, and 44.

26. The antibody or antigen-binding portion of embodiment 24 or 25, wherein said heavy chain comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 39, 41, and 43 and wherein said light chain comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 40, 42, and 44.

27. The antibody of embodiment 26, wherein said heavy chain and said light chain respectively comprise amino acid sequences selected from the group consisting of:

a) SEQ ID NOS: 39 and 40;

b) SEQ ID NOS: 41 and 42; and

c) SEQ ID NOS: 43 and 44.

28. A monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, wherein said antibody comprises a heavy chain comprising SEQ ID NO: 39 and a light chain comprising SEQ ID NO: 40.

29. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 24-28, wherein said antibody is a chimeric antibody.

30. The antigen-binding portion of any one of embodiments 1-9, 18-22, and 24-28, wherein said portion is a single chain antibody, Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fd, single chain Fv molecule (scFv), bispecific single chain Fv dimer, diabody, domain-deleted antibody or single domain antibody (dAb).

31. The monoclonal antibody or antigen-binding portion according to any one of embodiments 1-30, wherein said antibody or antigen-binding portion has one or more properties selected from the group consisting of:

a) does not bind to human CCL16;

b) binds to cynomolgus or rhesus CCL20, but not to mouse or rat CCL20;

c) has a binding affinity for human CCL20 of 70 pM or less using a monovalent surface plasmon resonance assay;

d) has a binding affinity for human CCL20 of 12 pM or less using a bivalent surface plasmon resonance assay;

e) has a binding affinity for human CCL20 greater than that of human CCR6;

f) has a selectivity for human CCL20 over human CX3CL1, CXCL1, CXCL2, CXCL4, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL12, CXCL13, CXCL16, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL11, CCL13, CCL16, CCL17, CCL19, CCL21, CCL22, CCL24, CCL25, CCL27, CCL28, or XCL1;

g) reduces human CCL20-induced chemotaxis of CCR6+ cells with an IC_{50} of 1.7 nM or less;

h) reduces human CCL20-induced chemotaxis of CCR6+ cells *in vivo*;

i) reduces human CCL20-induced chemotaxis of CCR6 + cells *in vitro*;

j) reduces progression of arthritis symptoms in a subject;

k) reduces osteoporosis, bone erosion, or new bone formation in a subject;

l) reduces cartilage oligomeric matrix protein (COMP) serum levels in a subject;

m) reduces mRNA levels of RANKL, RANK, TRAP, or cathepsin K in a subject;

n) reduces progression of atopic dermatitis in a subject; and

o) reduces progression of allergic contact dermatitis in a subject..

32. A monoclonal anti-human CCL20 antibody, or an antigen-binding portion thereof, that binds to an epitope of human CCL20 comprising one or more amino acid sequences selected from the group consisting of:

a) residues 7-9 of SEQ ID NO: 84;

b) residues 10-19 of SEQ ID NO: 84; and

c) residues 20-22 of SEQ ID NO: 84.

33. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of embodiment 32, wherein said epitope comprises residues 7-9, 10-19, and 20-22 of SEQ ID NO: 84.

34. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of embodiment 32, wherein said epitope further comprises one or more amino acid sequences selected from the group consisting of:
    a) residues 39-55 of SEQ ID NO: 84;
    b) residues 56-67 of SEQ ID NO: 84; and
    c) residues 61-70 of SEQ ID NO: 84.

35. The monoclonal antibody or antigen-binding portion of embodiment 34, wherein said epitope comprises residues 7-9, 10-19, 20-22, 39-55, 56-67, and 61-70 of SEQ ID NO: 84.

36. An isolated nucleic acid molecule encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof of an antibody or portion according to any one of embodiments 1-35.

37. An isolated nucleic acid molecule encoding the light chain or an antigen-binding portion thereof of an antibody or portion according to any one of embodiments 1-35.

38. An isolated nucleic acid molecule encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof, and the light chain or an antigen-binding portion thereof, of an antibody or portion according to any one of embodiments 1-35.

39. An isolated nucleic acid molecule encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof of a monoclonal anti-human CCL20 antibody, wherein said nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 17-22, 25-30, and 109, or said nucleotide sequence without the sequence encoding a signal sequence, if present.

40. An isolated nucleic acid molecule encoding the light chain or an antigen-binding portion thereof of a monoclonal anti-human CCL20 antibody, wherein said nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 23, 24, 31, 32, 111, and 113, or said nucleotide sequence without the sequence encoding a signal sequence, if present.

41. The isolated nucleic acid molecule of embodiment 39 or 40, wherein said nucleic acid molecule comprises a nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 17-22, 25-30, and 109, or said nucleotide sequence without the sequence encoding a signal sequence if present; and wherein said nucleic acid molecule further comprises a

nucleotide sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 23, 24, 31, 32, 111, and 113, or said nucleotide sequence without the sequence encoding a signal sequence if present.

42. Use of (1) a nucleic acid sequence encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof, (2) a nucleic acid sequence encoding the light chain or an antigen-binding portion thereof, or (3) both, of an antibody or portion according to any one of embodiments 1-35, as a medicament.

43. A recombinant vector comprising (1) a nucleic acid sequence encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof, (2) a nucleic acid sequence encoding the light chain or an antigen-binding portion thereof, or (3) both, of an antibody or portion according to any one of embodiments 1-35.

44. A host cell comprising a first nucleic acid sequence encoding the heavy chain or an antigen-binding portion thereof of an antibody or portion according to any one of embodiments 1-35, said first nucleic acid sequence operably linked to an expression control element, and a second nucleic acid sequence encoding the light chain or an antigen-binding portion thereof of said antibody or portion, said second nucleic acid sequence operably linked to an expression control element.

45. A method of making an anti-human CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof, comprising maintaining the host cell of embodiment 44 under conditions appropriate for expression of the antibody or portion.

46. The method of embodiment 45, further comprising isolating the antibody or portion.

47. A composition comprising the monoclonal antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 1-35 and a pharmaceutically acceptable vehicle or carrier.

48. A method for treating a subject in need thereof, comprising administering to the subject an effective amount of the antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 1-35 or the composition of embodiment 47.

49. A method for treating a condition in a subject in need thereof, comprising administering to the subject an effective amount of the antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 1-35 or the composition of embodiment 47.

50. The method of embodiment 49, wherein said condition is a CCR6-associated condition.

51. The method of embodiment 49, wherein said condition is an autoimmune or inflammatory condition.

52. The method of embodiment 49, wherein said condition is rheumatoid arthritis, psoriasis, atopic dermatitis, contact dermatitis, Crohn's disease, inflammatory bowel disease, Grave's disease, vitiligo, hyperthyroidism, chronic hepatitis, human papillomavirus infection of the cervix, mycosis fungoides, osteoporosis, or periodontal disease.

53. A method for treating cancer, comprising administering to a subject an effective amount of the antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 1-35 or the composition of embodiment 47.

54. The method of embodiment 53, wherein said cancer is a B-cell malignancy, breast adenocarcinoma, glioblastoma, hepatocellular carcinoma, pancreatic adenocarcinoma, or thyroid papillary carcinoma.

55. A method for reducing CCL20-mediated chemotaxis of CCR6+ cells in a subject in need thereof, comprising administering to the subject the antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 1-35 or the composition of embodiment 47.

56. A method for reducing CCL20-mediated chemotaxis of CCR6+ cells *in vitro*, using the antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 1-35 or the composition of embodiment 47.

57. A method for treating a condition in a subject, comprising administering to the subject the antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 1-35 or the composition of embodiment 47, wherein said condition is selected from the group consisting of:

a) articular lesions of extremities distal to the elbow or knee;

b) erythema;

c) swelling;

d) increased cartilage oligomeric matrix protein (COMP) serum levels;

e) increased mRNA levels of receptor activator for nuclear factor κB ligand (RANKL), receptor activator for nuclear factor κB (RANK), tartrate resistant acid phosphatase (TRAP), or cathepsin K;

f) atopic dermatitis; and

g) allergic contact dermatitis.

58. Use of the antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 1-35 or the composition of embodiment 47 for the manufacture of a medicament.

59. Use of the antibody or antigen-binding portion of any one of embodiments 1-35 or the composition of embodiment 47 as a medicament.

Brief Description of the Drawings

[0083] FIG. 1 is a graph showing that CCR6 deficient mice are less sensitive to collagen-induced arthritis than wild-type mice. Wild type, $CCR6^{+/+}$ mice; Het, $CCR6^{+/-}$ mice; Knockout, $CCR6^{-/-}$ mice. See Example 1.

[0084] FIG. 2 is a graph showing that CCR6 deficient mice exhibit impaired infiltration of T-cells (as indicated by CD3 levels) in collagen-induced arthritic lesions in comparison to wild-type mice. Data shown are means ± SEM from one experiment (n=7 mice per group). *$p<0.05$, **$p<0.01$. See Example 1.

[0085] FIG. 3 is a graph showing that CCR6 deficient mice exhibit impaired infiltration of macrophages (as indicated by F4/80 levels) in collagen-induced arthritic lesions in comparison to wild-type mice. Data shown are means ± SEM from one experiment (n=7 mice per group). **$p<0.01$. See Example 1.

[0086] FIG. 4 is a graph showing that in comparison to wild-type mice, CCR6 deficient mice are resistant to increased ear thickness in a dinitrofluorobenzene (DNFB)-induced allergic contact dermatitis model. WT, wild-type mice; KO, CCR6 deficient mice. See Example 1.

[0087] FIG. 5 is a graph showing that 2F5-5 MAb inhibits CCL20-induced chemotaxis. See Example 2.

[0088] FIGS. 6A-C depict sequence alignments of variable domains of antibodies of the invention (SEQ ID NOS: 9-16) with those of mouse anti-human antibodies 36F7C10 (VH: SEQ ID NO: 39; VL: SEQ ID NO: 40) and 42G5B10 (VH: SEQ ID NO: 43) and with germline sequences IGHV1-

46*03 (SEQ ID NO: 57), JH4 (SEQ ID NO: 58), and IGKV1D-39*01 (SEQ ID NO: 59). Kabat and Chothia definitions of each CDR are indicated. ABM67212 (SEQ ID NO: 82) and BAH04867.1 (SEQ ID NO: 83) are human antibodies from which the framework regions of the shown humanized antibody chains were derived. See Example 3.

[0089] FIGS. 7A-C are tables depicting the inhibition of *in vitro* chemotaxis by different combinations of humanized anti-human CCL20 antibody chains. Data represent three trials, except where indicated. See Example 4.

[0090] FIGS. 8A-C depict three independent trials performed to assess the inhibitory effect of the humanized HC2/LK3 anti-human CCL20 antibody. The HC2/LK3 antibody is shown to inhibit CCL20-induced chemotaxis. Values for IC_{50}, IC_{90}, and IC_{95} are shown for each experiment. See Example 4.

[0091] FIGS. 9A-C depict a series of graphs showing that humanized antibodies B) HC2/LK3 and C) HC2/LC3 demonstrate dose dependent inhibition of cell migration comparable to that of A) mouse antibody 36F7C10 in a transendothelial migration assay. See Example 4.

[0092] FIGS. 10A and B depict Biacore™ sensograms demonstrating that the A) HC2/LC3 and B) HC2/LK3 humanized antibodies bind to human CCL20 in a concentration-dependent manner. See Example 5.

[0093] FIGS. 11A-D demonstrate that anti-human CCL20 antibodies specifically bind to human CCL20. An ELISA assay with plate-bound CCL20 and other chemokines (at 1 μg/ml) was used to detect binding of A) 36F7C10 and chimeric antibodies, and B) humanized HC2LK3 and HC2LC3 antibodies. C) An ELISA assay with His-tag anchored CCL20 was used to detect binding. D) Biacore™ experiments confirm that anti-human CCL20 antibodies bind to human CCL20, and exhibit negligible binding to CXCL4. See Example 6.

[0094] FIG. 12 shows an amino acid sequence alignment between a56-residue overlap portion of CCL20 (SEQ ID NO: 114) and CCL16 (SEQ ID NO: 115). See Example 6.

[0095] FIGS. 13A and B are a series of graphs showing that A) chimeric and B) humanized anti-human CCL20 antibodies react specifically with CCL20 and do not react with CCL16. See Example 6.

[0096] FIG. 14 shows amino acid sequence alignments between human (first disclosure is SEQ ID NO: 85 and second disclosure is residues 2-96 of SEQ ID NO: 85), rhesus (SEQ ID NO: 86), cynomolgus (SEQ ID NO: 87), and mouse (SEQ ID NO: 88) CCL20 orthologs. See Example 7.

[0097] FIG. 15 is a schematic representation of anti-human CCL20 antibody detection in ELISA assays. See Example 7.

[0098] FIGS. 16A-C depict a series of graphs demonstrating that A) chimeric and B), C) humanized anti-human CCL20 antibodies bind effectively to human, rhesus, and cynomolgus CCL20, but not to mouse CCL20. See Example 7.

[0099] FIGS. 17A and B depict graphs demonstrating that humanized and chimeric anti-human CCL20 antibodies bind effectively to human, rhesus, and cynomolgus CCL20, but not to rat or mouse CCL20. The B) humanized and A) chimeric antibodies retain the binding specificity of A) mouse antibody 36F7C10, from which they are derived. See Example 7.

[0100] FIGS. 18A and B show the results of epitope mapping of human CCL20 by hydrogen/deuterium exchange. This experiment utilized a variant of human CCL20 (SEQ ID NO: 84) from R&D Systems in which the second to last residue is a D instead of the N shown in the wild-type sequence. A) The deuteration level of each residue of CCL20 is indicated at four time points (from top: 150 s, 500 s, 1500 s, and 5000 s). B) Structure of human CCL20, indicating an epitope bound by antibodies of the invention. See Example 9.

[0101] FIG. 19 is a pair of graphs demonstrating that mouse CCR6-transduced B300 cells migrate toward both mouse and human CCL20. See Example 10.

[0102] FIG. 20 is a graph showing that mouse, chimeric, and humanized anti-human CCL20 antibodies inhibit mouse T-cell migration toward human CCL20 *in vivo* in a dose-dependent fashion. See Example 10.

[0103] FIG. 21 is a graph showing that hamster anti-mouse CCL 20 MAb 2F5-5 reduces collagen-induced arthritis symptoms in mice. See Example 11.

[0104] FIG. 22 is a table of individual animal clinical scores demonstrating that 2F5-5 MAb reduces progression of collagen-induced arthritis symptoms. See Example 11.

[0105] FIG. 23 is a graph depicting the grading of mouse paws by X-ray scoring. 2F5-5 MAb is shown to reduce bone pathology in mice with collagen-induced arthritis. Cont: control IgG. See Example 11.

[0106] FIG. 24 depicts examples of scored X-rays indicating bone pathology in the paws of mice with collagen-induced arthritis. O: osteoporosis, E: bone erosion, N: new bone formation. See Example 11.

[0107] FIGS. 25A-C show measurements of a marker of cartilage destruction, serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP), in a collagen-induced arthritic mouse model. A) Calibrator data with a COMP standard. X axis, units/liter; Y axis, optical density at 450 nm. B) Plate template and raw data for mice treated with a hamster control IgG or 2F5-5 MAb. C) Data from individual animals demonstrates reduced COMP levels in animals treated with 2F5-5 MAb compared to animals treated with control IgG antibodies. See Example 11.

[0108] FIG. 26 is a graph showing that 2F5-5 MAb decreases serum levels of COMP in mice. Ctrl IgG: isotype-matched antibody; CCL20 mAb: 2F5-5 MAb. See Example 11.

[0109] FIGS. 27A and B are graphs showing that 2F5-5 MAb reduces mRNA expression of osteoclast markers A) RANKL and RANK, and B) TRAP and Cathepsin K. Ctrl IgG: isotype-matched antibody; CCL20 mAb: 2F5-5MAb; Y axis: quantitative PCR units. See Example 11.

[0110] FIG. 28 is a graph showing that 2F5-5 MAb has a prophylactic effect on glucose-6-phosphate isomerase-induced arthritis in mice. See Example 12.

[0111] FIG. 29 is a graph showing that 2F5-5 MAb suppresses the progression of oxazolone-induced atopic dermatitis in mice. See Example 13.

[0112] FIG. 30 is a graph showing that 2F5-5 MAb inhibits dinitrofluorobenzene-induced allergic contact dermatitis (as measured by ear thickness) in mice. See Example 14.

Detailed Description of the Invention

[0113] This invention is directed to antibodies that specifically bind to CCL20 or a portion thereof (*e.g.*, an antigenic portion thereof). The invention is also directed to antigen-binding portions of said antibodies. In one embodiment, the antibodies neutralize one or more activities of CCL20. An antibody is said to bind specifically to CCL20 if it does not substantially bind to non-CCL20 molecules. Substantial binding is, for example, binding with a K_D of $\leq$ 100 nM, preferably $\leq$ than 10 nM, 1 nM, 100 pM, 50 pM, 40 pM, or 35 pM as determined by Biacore™ (in bivalent format). In one embodiment, the antibodies or portions bind specifically to human CCL20 or a portion thereof, to some sequence variants of human CCL20 such as allelic variants, and may also cross-react with CCL20 from other species. In one embodiment, the antibodies or portions have binding specificity for a wild-type (also referred to as naturally occurring or endogenous) human CCL20. Unless otherwise indicated, "human CCL20" refers to wild-type human CCL20. The amino acid sequence of a wild-type human CCL20 with the signal sequence is shown in FIG. 14 (SEQ ID NO: 85). The amino acid sequence of a wild-type human CCL20 without the signal sequence (residues 1-26 of SEQ ID NO: 85) is found in SEQ ID NO: 99 (see Table 18). FIG. 18 depicts a variant of human CCL20 without the signal sequence (SEQ ID NO: 84) wherein the next to last residue is a D instead of the N as in the wild-type sequence (SEQ ID NO: 85). In some embodiments, the antibodies or portions bind to wild-type human CCL20, or human CCL20 wherein the next to last residue is a D instead of the N shown in the wild-type sequence, either sequence with or without the signal sequence (*e.g.*, SEQ ID NO: 84, 85, or 99). In a particular embodiment, the antibodies or portions bind specifically to human, rhesus, and cynomolgus CCL20 but do not bind to mouse or rat CCL20.

[0114] The antibodies and antigen-binding portions thereof described herein can be purified and/or isolated using known techniques. Antibodies or portions that are "purified" or "isolated" have been

separated away from molecules (*e.g.*, peptides) of their source of origin (*e.g.*, the supernatant of cells; in a mixture such as in a mixture of antibodies in a library; etc.), and include antibodies obtained by methods described herein or other suitable methods. Isolated antibodies include substantially pure (*e.g.*, essentially pure) antibodies, as well as antibodies produced by chemical synthesis, recombinant techniques and a combination thereof.

[0115] More specifically, the invention relates to anti-human CCL20 antibodies, antigen-binding portions (*i.e.*, portions) of the antibodies, the light chains of the antibodies, the heavy chains of the antibodies, and portions of these light chains or heavy chains. The invention also relates to antibodies lacking the heavy and/or light chain signal sequences and glycosylated antibodies. The invention also relates to precursor antibodies, nonglycosylated antibodies, and antibodies whose heavy and/or light chains comprise signal sequences. The invention also relates to nucleic acid molecules that encode any of the antibody heavy chains and/or light chains, or portions thereof described herein; to vectors and host cells that comprise such nucleic acids; to methods of producing any of the antibody heavy and/or light chains or portions thereof described herein; and to methods of using the antibodies, antibody chains, or portions.

[0116] The antibodies and antigen-binding portions thereof of this invention can be used to treat a subject in need thereof (*e.g.*, a human patient) to reduce CCL20 binding to CCR6, CCL20-mediated inflammation, and/or CCL20-mediated chemotaxis of CCR6+ cells as needed.

[0117] Antibodies of the invention include traditional antibodies comprising two heavy chains and two light chains. In some embodiments, one or more of the heavy and/or light chains comprises a variable domain (also referred to herein as a "variable region") and a constant domain (also referred to herein as a "constant region"). Complete variable domains, where present, comprise four framework regions (FRs) and three complementarity determining regions (CDRs), arranged, proceeding from the amino terminus, in the order FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Visual inspection and sequence analysis can be carried out to identify the CDR boundaries. For this invention, the CDR sequences are defined by using the Kabat system (Kabat, E.A. *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Government Printing Office (1991)) and/or the Chothia system (Chothia & Lesk, *Canonical Structures for the Hypervariable Regions of Immunoglobulins*, *J. Mol. Biol.* **196**:901-917 (1987)), as indicated in, *e.g.*, FIG. 6.

[0118] Embodiments of the present invention that comprise a human heavy chain constant region may comprise a human constant region of any isotype, including IgG, IgM, IgA, IgD and IgE, in which the heavy chains are of the gamma (γ), mu (μ), alpha (α), delta (δ) or epsilon (ε) type, respectively, and any subclasses including IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 and IgA2, in which the

heavy chains are of the γ1, γ2, γ3, γ4, α1 and α2 type, respectively. Embodiments comprising human light chains may comprise a human kappa (κ) or a human lambda (λ) light chain.

[0119] As used herein, the term "antibody" refers to a complete antibody (comprising two full-length heavy chains and two full-length light chains). The term "antigen-binding fragment" is used interchangeably herein with the term "antigen-binding portion" unless otherwise indicated. Antigen-binding portions of antibodies can be in the format of, for example, single chain antibodies, Fv fragments, Fab fragments, Fab' fragments, $F(ab')_2$ fragments, Fd fragments, single chain Fv molecules (scFv), bispecific single chain Fv dimers (PCT/US92/09665), diabodies, domain-deleted antibodies and single domain antibodies (dAbs). See, *e.g.*, Jespers et al., *Nature Biotechnology* 22(9):1161-1165 (2004)). Also within the invention are antigen-binding molecules comprising a VH and/or a VL. In the case of a VH, the molecule may also comprise one or more of a CH1, hinge, CH2 and CH3 region.

[0120] Antibody portions can be produced by enzymatic cleavage or by recombinant techniques. For instance, papain or pepsin cleavage can be used to generate Fab or $F(ab')_2$ fragments, respectively. Antibodies also can be produced in a variety of truncated forms using antibody genes in which one or more stop codons have been introduced upstream of the natural stop site. For example, a recombinant construct encoding the heavy chain of an $F(ab')_2$ fragment can be designed to include DNA sequences encoding the CH_1 domain and hinge region of the heavy chain.

[0121] In another embodiment, a fusion antibody or immunoadhesin may be made that comprises all or a portion of an anti-CCL20 antibody of the invention linked to another polypeptide. In one embodiment, only the variable domains of the anti-CCL20 antibody are linked to the polypeptide. In another embodiment, the V_H domain of an anti-CCL20 antibody is linked to a first polypeptide, while the V_L domain of an anti-CCL20 antibody is linked to a second polypeptide that associates with the first polypeptide in a manner such that the V_H and V_L domains can interact with one another to form an antigen binding site. In yet another embodiment, the V_H domain is separated from the V_L domain by a linker such that the V_H and V_L domains can interact with one another (see below under Single Chain Antibodies). The V_H-linker-V_L antibody is then linked to the polypeptide of interest. In addition, fusion antibodies can be created in which two (or more) single-chain antibodies are linked to one another, to create a divalent or polyvalent antibody on a single polypeptide chain, or to create a bispecific antibody.

[0122] To create a single chain antibody of the invention, the V_H- and V_L-encoding DNA fragments are operatively linked to another fragment encoding a flexible linker, *e.g.*, encoding the amino acid sequence $(Gly_4\text{-}Ser)_3$ (SEQ ID NO: 116), such that the V_H and V_L sequences can be expressed as a contiguous single-chain protein, with the V_L and V_H domains joined by the flexible linker. See, *e.g.*, Bird *et al.*, *Science* **242**:423-426 (1988); Huston *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**:5879-5883

(1988); McCafferty *et al.*, *Nature* **348**:552-554 (1990); etc. In some embodiments, the single chain antibody is monovalent (only a single V_H and V_L are used), bivalent (two V_H and V_L are used), or polyvalent (more than two V_H and V_L are used). The invention also contemplates bispecific or polyvalent antibodies that bind specifically to human CCL20 and to another molecule.

[0123] In other embodiments, other modified antibodies may be prepared using anti-CCL20 antibody-encoding nucleic acid molecules. For instance, "Kappa bodies" (Ill *et al.*, *Protein Eng.* **10**:949-57 (1997)), "Minibodies" (Martin *et al.*, *EMBO J.* **13**:5303-9 (1994)), "Diabodies" (Holliger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**:6444-6448 (1993)), or "Janusins" (Traunecker *et al.*, *EMBO J.* **10**:3655-3659 (1991) and Traunecker *et al.*, *Int. J. Cancer* (Suppl.) **7**:51-52 (1992)) may be prepared using standard molecular biological techniques following the teachings of the specification.

[0124] In another aspect, the invention provides a variant of an antibody exemplified herein, or an antigen-binding portion of said variant antibody, wherein said variant antibody binds to human CCL20 specifically but differs in sequence from the exemplified antibody by 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, or more amino acid substitutions (for example, in a CDR region, a FR region, and/or a constant domain). According to the invention, the variant antibody may be at least 80%, at least 85%, at least 90%, at least 91%, at least 92%, at least 93%, at least 94%, at least 95%, at least 96%, at least 97% at least 98% or at least 99% identical to the reference antibody in the heavy chain, the heavy chain variable domain, the light chain, the light chain variable domain, the six CDRs, or the eight FRs.

[0125] As used herein, sequence similarity for polypeptides, which is also referred to as sequence identity, is typically measured using sequence analysis software, which matches similar sequences using measures of similarity assigned to various substitutions, deletions and other modifications, including conservative amino acid substitutions. For instance, the Genetics Computer Group (GCG) Sequence Analysis Package contains programs such as "Gap" and "Bestfit" which can be used with default parameters to determine sequence homology or sequence identity between closely related polypeptides, such as homologous polypeptides from different species of organisms or between a wild type protein and a mutein thereof. See, *e.g.*, GCG Version 6.1. Polypeptide sequences can also be compared with FASTA, a program in GCG Version 6.1, using default or recommended parameters. FASTA (*e.g.*, FASTA2 and FASTA3) provides alignments and percent sequence identity of the regions of the best overlap between the query and search sequences (Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98 (1990); Pearson, Methods Mol. Biol. 132:185-219 (2000)). Another algorithm used when comparing a sequence of the invention to a database containing a large number of sequences from different organisms is the computer program BLAST, especially blastp or tblastn, using default parameters. See, *e.g.*, Altschul *et al.*, J. Mol. Biol. **215**:403-410 (1990); Altschul *et al.*, Nucleic Acids Res. **25**:3389-402 (1997); herein incorporated by reference.

[0126] According to the invention, one or more cysteines in the antibody, which may be chemically reactive, may be changed to another residue, such as, without limitation, alanine or serine. In one embodiment, a non-canonical cysteine is substituted. The substitution can be made in a CDR or framework region of a variable domain or in the constant domain of an antibody. In some embodiments, the cysteine is canonical. In some embodiments, potential proteolytic sites in the antibody are removed. Such sites may occur in a CDR or framework region of a variable domain or in the constant domain of an antibody. Substitution of cysteine residues and removal of proteolytic sites may decrease the risk of heterogeneity in the antibody product and thus increase its homogeneity. In some embodiments, asparagine-glycine pairs, which form potential deamidation sites, are eliminated by altering one or both of the residues. In some embodiments, the antibody is deimmunized to reduce its immunogenicity. Techniques for reducing the immunogenicity of an antibody are well known in the art. See, *e.g.*, PCT Publication Nos. WO 98/52976 and WO 00/34317.

[0127] In some embodiments, the antibody has one or more conservative amino acid substitutions when compared with an exemplified antibody of the invention. A "conservative amino acid substitution" is one in which an amino acid residue is substituted by another amino acid residue having a side chain R group) with similar chemical properties (*e.g.*, charge or hydrophobicity). In general, a conservative amino acid substitution will not substantially change the functional properties of a protein. In cases where two or more amino acid sequences differ from each other by conservative substitutions, the percent sequence identity or degree of similarity may be adjusted upwards to correct for the conservative nature of the substitution. Means for making this adjustment are well-known to those of skill in the art. See *e.g.*, Pearson, Methods Mol. Biol. 243:307-31 (1994).

[0128] Examples of groups of amino acids that have side chains with similar chemical properties include 1) aliphatic side chains: glycine, alanine, valine, leucine, and isoleucine; 2) aliphatic-hydroxyl side chains: serine and threonine; 3) amide-containing side chains: asparagine and glutamine; 4) aromatic side chains: phenylalanine, tyrosine, and tryptophan; 5) basic side chains: lysine, arginine, and histidine; 6) acidic side chains: aspartic acid and glutamic acid; and 7) sulfur-containing side chains: cysteine and methionine. Preferred conservative amino acids substitution groups are: valine-leucine-isoleucine, phenylalanine-tyrosine, lysine-arginine, alanine-valine, glutamate-aspartate, and asparagine-glutamine. Alternatively, a conservative replacement is any change having a positive value in the PAM250 log-likelihood matrix disclosed in Gonnet *et al.*, *Science* **256**:1443-45 (1992). A "moderately conservative" replacement is any change having a nonnegative value in the PAM250 log-likelihood matrix.

[0129] In certain embodiments, amino acid substitutions to an antibody or antigen-binding portion of the invention are those which: (1) reduce susceptibility to proteolysis, (2) reduce susceptibility to oxidation, (3) alter binding affinity for forming protein complexes, for example, to enhance ADCC

and CDC activity of the antibody, (4) confer or modify other physicochemical or functional properties of such analogs, but still retain specific binding to human CCL20, (5) remove C-terminal lysine, and (6) add or remove glycosylation sites.

[0130] In one aspect, the invention provides a new and novel polypeptide that is the heavy or light chain of an antibody of this invention, or that is a variable domain-containing portion of the heavy or light chain. Such a polypeptide is useful because it can partner with a light or heavy antibody chain, respectively, to form an anti-CCL20 antibody.

[0131] Described herein are novel humanized neutralizing anti-CCL20 antibodies comprising the CDRs of novel mouse anti-human CCL20 antibodies, and antigen-binding portions of said humanized antibodies. The term "humanized anti-CCL20 antibody" as used herein refers to an antibody that comprises one or more CDRs (CDR1, CDR2 and CDR3) of an anti-CCL20 antibody of non-human origin, also referred to herein as the donor antibody (*e.g.*, a mouse anti-CCL20 antibody), and at least a portion from a human sequence. The human antibody portion may be one or more framework regions (*e.g.*, all of the framework regions), and/or all or part of a constant region. In some embodiments, the human sequence framework region comprises a germline sequence, but may include non-germline mutations. A CDR-grafted anti-CCL20 antibody in which the six CDRs of a non-human anti-CCL20 antibody are grafted into a human framework is an example of a humanized anti-CCL20 antibody of the invention. See, *e.g.*, Cabilly *et al.*, U.S. Patent No. 4,816,567; Cabilly *et al.*, European Patent No. 0,125,023 B1; Boss *et al.*, U.S. Patent No. 4,816,397; Boss *et al.*, European Patent No. 0,120,694 B1; Neuberger, M.S. *et al.*, WO 86/01533; Neuberger, M.S. *et al.*, European Patent No. 0,194,276 B1; Winter, U.S. Patent No. 5,225,539; Winter, European Patent No. 0,239,400 B1; Padlan, E.A. *et al.*, European Patent Application No. 0,519,596 A1. See also, Ladner *et al.*, U.S. Patent No. 4,946,778; Huston, U.S. Patent No. 5,476,786; and Bird *et al.*, *Science* **242**:423-426 (1988)). In some embodiments, humanized antibodies are de-immunized antibodies. See, *e.g.*, Carr *et al.*, U.S. Patent No. 7,264,806, regarding de-immunized antibodies that have been modified to reduce the number of potential T-cell epitopes, thereby reducing the propensity for the antibody to elicit an immune response upon administration to a human.

[0132] In particular embodiments, the humanized antibody comprises one or more light chain CDRs and/or one or more heavy chain CDRs of one or more of the following murine monoclonal anti-human CCL20 antibodies: 36F7C10, 42G5B10, and 40-1C10B9, wherein the CDRs are identified according to the Kabat system, the Chothia system, or any combination thereof. In some embodiments, the humanized antibody comprises all three heavy chain CDRs and all three light chain CDRs of antibody 36F7C10, 42G5B10, or 40-1C10B9.

[0133] In another embodiment, the humanized antibodies have the binding specificity of a murine anti-human CCL20 antibody of the invention (*e.g.*, specificity for human CCL20, the same or similar

epitopic specificity) and/or have a neutralizing activity. The humanized antibodies can have the binding specificity, epitopic specificity, and/or neutralizing activity of a murine, chimeric, or humanized anti-human CCL20 antibody described herein. For example, a humanized antibody of the invention can compete with the murine, chimeric, or humanized anti-human CCL20 antibody for binding to human CCL20, and/or it can have the neutralizing function of the murine, chimeric, or humanized anti-human CCL20 antibody. In a particular embodiment, the humanized antibody has the binding specificity, epitopic specificity and/or neutralizing activity of any one of mouse antibodies 36F7C10, 42G5B10, and 40-1C10B9.

[0134] The human sequence portion of the humanized antibody (*e.g.*, framework region; constant region) can be from any suitable human antibody. For example, a human constant region or portion thereof in a humanized or chimeric antibody can be encoded by a human κ or λ light chain gene, and/or by a human γ (*e.g.*, γ1, γ2, γ3, γ4), μ, α (*e.g.*, α1, α2), δ or ε heavy chain gene, including allelic variants. A particular human constant region isotype (*e.g.*, IgG1; IgG2), variant or portion thereof can be selected to tailor effector function. For example, a mutated constant region (*i.e.*, a variant) can be incorporated into the antibody to reduce binding to an Fc receptor and/or ability to fix complement. (See *e.g.*, Winter *et al.*, GB 2,209,757 B; Morrison *et al.*, WO 89/07142; Morgan *et al.*, WO 94/29351).

[0135] As used herein, the term "germline" refers to the nucleotide sequences and amino acid sequences of the antibody genes and gene segments as they are passed from parents to offspring via the germ cells. This germline sequence is distinguished from the nucleotide sequences encoding a particular antibody in a B cell, which has been altered by recombination and hypermutation events during the course of affinity maturation. An antibody that "utilizes" a particular germline has a nucleotide or amino acid sequence that most closely aligns with the germline nucleotide sequence or with the amino acid sequence that it specifies as compared to other germline sequences. Such antibodies may be encoded by or comprise a sequence that is mutated compared with the germline sequence.

[0136] In some embodiments, the human framework has minimal variation from germline sequence, for example, less than 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 10 acceptor framework residues have been replaced to improve one or more properties of the antibody. In some embodiments, acceptor framework residues are replaced with donor framework residues, *e.g.*, to improve binding affinity (see, *e.g.*, Queen *et al.*, U.S. Patent No. 5,530,101). In a particular embodiment, a limited number of amino acids in the framework of a humanized antibody chain (*e.g.*, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 10 amino acids) are chosen to be the same as the amino acids at those positions in the donor sequence (*i.e.*, "back-mutated"), rather than in the acceptor sequence, to increase the affinity of an antibody comprising the humanized antibody chain for human CCL20.

[0137] Human framework regions (*e.g.*, of the heavy and/or light chain variable regions) are preferably obtained or derived from a human germline sequence having sequence similarity to the analogous or equivalent region (*e.g.*, heavy or light chain variable regions) of the antigen-binding region of the donor antibody (*e.g.*, murine anti-CCL20 antibody). Other sources of framework regions for human sequence portions of a humanized antibody include human variable region consensus sequences (See *e.g.*, Kettleborough *et al.*, *Protein Engineering* **4**:773-783 (1991); Carter *et al.*, WO 94/04679; Carter U.S. Patent No. 6,407,213)). For example, the region of the donor sequence of the antibody (*e.g.*, the sequence of the variable region) used to obtain the nonhuman portion can be compared to human sequences as described in Kabat, E. A. *et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Government Printing Office (1991) to select a particular source of the human portions of the humanized antibody, *e.g.*, a source of the framework regions.

[0138] In one embodiment, the framework regions of the humanized antibody chains are obtained, or derived, from a human Ig variable region having at least about 50%, at least about 55%, at least about 60%, at least about 65%, at least about 70%, at least about 75%, at least about 80%, at least about 85%, at least about 90% or at least about 95% overall sequence identity, with the variable region of the nonhuman donor. In a particular embodiment, the framework regions of the humanized antibody chains are obtained or derived from human variable region framework regions having at least about 50%, at least about 55%, at least about 60%, at least about 65%, at least about 70%, at least about 75%, at least about 80%, at least about 85%, at least about 90%, or at least about 95% overall sequence identity with the framework regions of the variable region of the nonhuman donor antibody.

[0139] In one embodiment, at least one of the framework regions (FR) of the humanized antibody is obtained or derived from one or more chains of a human sequence. Thus, the FR can include a FR1 and/or FR2 and/or FR3 and/or FR4 obtained or derived from one or more human sequence antibodies (*e.g.*, from a human antibody chain, from a human consensus sequence).

[0140] It will be appreciated by one of skill in the art that in some cases residues flanking the one or more CDRs of the murine anti-CCL20 antibod(ies) may contribute, and in some cases, may be essential, either directly or indirectly, to function (*e.g.*, binding). Accordingly, in some embodiments, one or more amino acids flanking one or more CDRs (*e.g.*, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, or more flanking amino acids) of the murine framework are also included in the humanized antibody.

[0141] In some embodiments, the human heavy chain framework regions of the humanized antibodies of this invention utilize the human IGHV1-46*03 germline sequence. In some embodiments, the human light chain framework regions of the humanized antibodies of this invention utilize the human IGKV1D-39*01 germline sequence. Mutations (*e.g.*, back mutations) may

optionally be made in these FR regions, *e.g.*, at one or more of the residues as described in the Examples below to improve CCL20-binding affinity of the humanized antibody.

[0142] "Affinity" is a term of art that describes the strength of a binding interaction and typically refers to the overall strength of binding of the antibody to the antigen. The affinity of the antibody for the antigen is typically expressed as the binding affinity equilibrium constant (K_D) of a particular antibody-antigen interaction.

[0143] In some embodiments, the antibody binds to human CCL20 with an affinity (K_D; $K_D=K_{off}$ (kd)/Kon (ka)) of 500 pM or less, 400 pM or less, 300 pM or less, 200 pM or less, 100 pM or less, 90 pM or less, 80 pM or less, 70 pM or less, 60 pM or less, 50 pM or less, or 45 pM or less as determined by monovalent surface plasmon resonance; or 12 pM or less, 10 pM or less, 8 pM or less, 6 pM or less, or 5 pM or less as determined by bivalent surface plasmon resonance. In some embodiments, the antibody binds to human CCL20 with a k_a of 1000 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, 900 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, 800 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, 700 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, 600 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, 500 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, 400 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, 300 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, 240 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, 200 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, 190 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, 180 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, 170 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, 160 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, or 150 x 10^5 M^{-1} sec^{-1} or less, as determined by monovalent surface plasmon resonance (Biacore™). In some embodiments, the antibody binds to human CCL20 with a k_d of 1000 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 900 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 800 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 700 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 600 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 500 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 400 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 300 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 240 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 200 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 190 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 180 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 170 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 160 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 150 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 140 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 130 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 120 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 100 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 90 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 80 x 10^{-5} sec^{-1} or less, 70 x 10^{-5} sec^{-1} or less, or 65 x 10^{-5} sec^{-1} or less as determined by monovalent surface plasmon resonance (Biacore™).

[0144] As is apparent to one of skill in the art, a variety of methods can be used to confirm that antibodies and antigen-binding portions thereof produced according to methods provided herein and known in the art have the requisite specificity (*e.g.*, binding specificity, epitopic specificity). For example, the binding function of a humanized anti-CCL20 antibody or portion of the invention having binding specificity for human CCL20 can be detected using any suitable method, *e.g.*, assays which monitor formation of a complex between the humanized antibody or portion and human CCL20 (or, *e.g.*, a peptide having an amino acid sequence of CCL20 or a solid support comprising human CCL20).

[0145] The ability of an antibody or an antigen-binding portion thereof of the invention (*e.g.*, a humanized antibody or portion of the invention) to bind to the same epitope on human CCL20 as a particular murine, chimeric, or humanized monoclonal antibody disclosed herein, or to bind to an epitope on human CCL20 which overlaps with the epitope on human CCL20 to which a particular

murine, chimeric, or humanized monoclonal antibody disclosed herein binds, can be readily determined using a variety of techniques known to those of skill in the art, including *e.g.*, competitive binding assays. These may involve the use of a labeled form of said particular antibody, and a measurement of the binding of that labeled antibody to human CCL20 in the presence and in the absence of an antibody of the invention.

[0146] An "epitope" as used herein includes any protein determinant capable of specific binding to an antibody. Methods for characterizing the epitope to which an antibody binds are known in the art. One method of characterizing an epitope bound by an anti-CCL20 antibody of the invention is described in Example 9. Once a desired epitope on an antigen is determined, it is possible to generate antibodies to that epitope, *e.g.*, using the techniques described in the present invention. Alternatively, during the discovery process, the generation and characterization of antibodies may elucidate information about desirable epitopes. From this information, it is then possible to competitively screen antibodies for binding to the same epitope. For example, the skilled worker may conduct competition studies to find antibodies that competitively bind with one another, *i.e.*, antibodies that compete for binding to the antigen.

[0147] In one embodiment, to determine if a test antibody or antigen-binding portion thereof binds to the same or overlapping epitope as a humanized antibody of this invention, one allows the anti-CCL20 antibody of the invention to bind to CCL20 under saturating conditions and then measures the ability of the test antibody to bind to CCL20. If the test antibody is able to bind to CCL20 at the same time as the reference anti-CCL20 antibody, then the test antibody may bind to a different epitope than the reference anti-CCL20 antibody. However, if the test antibody is not able to bind to CCL20 at the same time, then the test antibody may bind to the same epitope, an overlapping epitope, or an epitope that is in close proximity to the epitope bound by the anti-CCL20 antibody of the invention. This experiment can be performed using, *e.g.*, ELISA, RIA, Biacore™, or flow cytometry. To test whether an anti-CCL20 antibody cross-competes with another anti-CCL20 antibody, one may use the competition method described above in two directions, *i.e.*, determining if the reference antibody blocks the test antibody and vice versa. In some embodiments, the experiment is performed using Biacore™.

[0148] Epitope binning also can be useful to characterize the antibodies of this invention. The term "binning" refers to a method to group antibodies based on their antigen binding characteristics. A high throughput process for "binning" antibodies based upon their cross-competition is described in International Patent Application No. WO 03/48731. The "epitope binning" can be investigated by allowing an unlabeled form of an anti-CCL20 antibody "A" to bind to a synthetic peptide corresponding to the sequence of CCL20 or to CCL20 positive cells. Subsequently a labeled second anti-CCL20 antibody "B" is added and one can assess the amount of labeled antibody that can bind

relative to a control sample where the cells or synthetic peptide have not been exposed previously to anti-CCL20 antibody "A." Alternatively, anti-CCL20 antibodies "A" and "B" can both be labeled with different fluorochromes or chemicals enabling detection, and one can measure the quantities of both labeled antibodies that can engage the CCL20 peptide at the same time using a device capable of detecting the label or measure the amounts of both antibodies that simultaneously engage CCL20 positive cells by flow cytometry. Biacore™ and Octet technologies enable one to investigate the competitive binding of unlabelled forms of antibodies. This use of unlabelled forms of antibodies is desired as the chemical modification of some antibodies can compromise the binding activity. See also the technology described in Jia *et al.*, *J. Immunol. Methods* **288**:91-98 (2004), which is useful in performing epitope binning as well.

[0149] Also provided herein are portions of the anti-CCL20 antibodies of the invention, such as light chains, heavy chains, and portions of light and heavy chains. These antibody portions can be obtained or derived from antibodies (*e.g.*, by reduction and/or cleavage), or produced or expressed by nucleic acids encoding a portion of an antibody or chain thereof having the desired property (*e.g.*, binds human CCL20, sequence similarity). They can also be prepared by *e.g.*, *de* novo synthesis of the relevant portion. Humanized antibodies comprising the desired portions (*e.g.*, antigen-binding region, CDR, FR, C region) of human and nonhuman origin can be produced using synthetic and/or recombinant nucleic acids to prepare constructs (*e.g.*, cDNA) encoding the desired humanized chain. For example, to prepare a portion of an antibody (*e.g.*, a portion of a chain), one or more stop codons can be introduced at the desired position in the nucleic acid sequence. Nucleic acid (*e.g.*, DNA) sequences coding for humanized variable regions can be constructed using PCR mutagenesis methods to alter existing DNA sequences (see *e.g.*, Kamman *et al.*, *Nucl. Acids Res.* **17**:5404 (1989)). PCR primers coding for the new CDRs can be hybridized to a DNA template of a previously humanized variable region which is based on the same, or a very similar, human variable region (Sato *et al.*, *Cancer Research* **53**:851-856 (1993)). If a similar DNA sequence is not available for use as a template, a nucleic acid comprising a sequence encoding a variable region sequence can be constructed from synthetic oligonucleotides (see *e.g.*, Kolbinger, *Protein Engineering* **8**:971-980 (1993)). A sequence encoding a signal peptide ("signal sequence") can also be incorporated into the nucleic acid (*e.g.*, on synthesis, upon insertion into a vector). If a signal peptide sequence is unavailable (*e.g.*, not typically present), a signal peptide sequence from another antibody can be used (see, *e.g.*, Kettleborough, *Protein Engineering* **4**:773-783 (1991)). Using these methods, methods described herein or other suitable methods, variants can readily be produced.

[0150] As used herein, the acronym "mAb" (or "MAb") refers to a monoclonal antibody, which may be, *e.g.*, an antibody synthesized by a clonal population of cells or a humanized antibody. A clonal population that produces a monoclonal antibody can be a clonal population of immortalized

cells. In some embodiments, the immortalized cells in the clonal population are hybrid cells - hybridomas - typically produced by the fusion of individual B lymphocytes from an immunized animal with individual cells from a lymphocytic tumour.

[0151] The invention relates in part to a humanized antibody or antigen-binding portion thereof that has binding specificity for human CCL20 and comprises a humanized light chain and a humanized heavy chain and/or portions thereof. In one embodiment, the humanized antibody comprises a light chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 7 and a heavy chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 1; a light chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 7 and a heavy chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 2; a light chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 7 and a heavy chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 3; a light chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 7 and a heavy chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 4; a light chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 7 and a heavy chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 5; a light chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 7 and a heavy chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 6; a light chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 8 and a heavy chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 1; a light chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 8 and a heavy chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 2; a light chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 8 and a heavy chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 3; a light chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 8 and a heavy chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 4; a light chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 8 and a heavy chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 5; or a light chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 8 and a heavy chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 6.

[0152] In one embodiment, a humanized antibody of the invention comprises heavy chain (H)-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, light chain (L)-CDR1, L-CDR2, and L-CDR3 whose amino acid sequences are:

a) SEQ ID NOS: 60, 64, 67, 70, 73, and 75, respectively;

b) SEQ ID NOS: 60, 64, 67, 71, 73, and 75, respectively;

c) SEQ ID NOS: 60, 63, 67, 70, 73, and 75, respectively;

d) SEQ ID NOS: 60, 63, 67, 71, 73, and 75, respectively;

e) SEQ ID NOS: 61, 65, 68, 70, 73, and 75, respectively;

f) SEQ ID NOS: 61, 65, 68, 71, 73, and 75, respectively;

g) SEQ ID NOS: 77, 79, 67, 70, 73, and 75, respectively;

h) SEQ ID NOS: 77, 79, 67, 71, 73, and 75, respectively;

i) SEQ ID NOS: 78, 80, 68, 70, 73, and 75, respectively; and

j) SEQ ID NOS: 78, 80, 68, 71, 73, and 75, respectively.

[0153] In another embodiment, a humanized antibody of this invention comprises an H-CDR3 whose sequence is SEQ ID NO: 67 or 68. In certain embodiments, a humanized antibody of this invention comprises H-CDR3 and L-CDR3 whose sequences are SEQ ID NOS: 67 and 75, respectively; or SEQ ID NOS: 68 and 75, respectively.

[0154] In another embodiment, the humanized antibody has binding specificity for human CCL20 and comprises a light chain comprising one or more CDRs selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 70 or 71; 73; and 75, or a combination thereof; and a heavy chain comprising one or more CDRs selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 60, 61, 77, or 78; 63, 64, 65, 79, or 80; and 67 or 68; or a combination thereof.

[0155] In another embodiment, the humanized antibody that has a binding specificity for human CCL20 comprises a light chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 7, 8, 110, or 112, and a heavy chain comprising one or more CDRs (*e.g.*, all three CDRs) of SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, or 108.

[0156] The invention also relates to a humanized antibody light chain of the humanized antibody described herein. In one embodiment, the humanized antibody light chain comprises one or more CDRs selected from the group consisting of 70 or 71; 73; and 75, or a combination thereof. For example, the humanized antibody has L-CDR1, L-CDR2, and L-CDR3 whose amino acid sequences are 70, 73, and 75 respectively; or 71, 73, and 75, respectively.

[0157] The invention also relates to a humanized antibody heavy chain of the humanized antibody described herein. In one embodiment, the humanized antibody heavy chain comprises one or more CDRs selected from the group consisting of 60, 61, 77, or 78; 63, 64, 65, 79, or 80; and 67 or 68; or a combination thereof. For example, the humanized antibody has H-CDR1, H-CDR2, and H-CDR3 whose amino acid sequences are:

a) SEQ ID NOS: 60, 63, and 67;

b) SEQ ID NOS: 60, 64, and 67;

c) SEQ ID NOS: 61, 65, and 68;

d) SEQ ID NOS: 77, 79, and 67; or

e) SEQ ID NOS: 78, 80, and 68.

[0158] In one embodiment, a humanized antibody of this invention comprises a light chain comprising a variable domain (V_L) sequence of SEQ ID NO: 15 or 16. In a related embodiment, the humanized antibody comprises a light chain whose amino acid sequence comprises or consists of one of SEQ ID NOS: 7, 8, 110, and 112. In one embodiment, the humanized antibody comprises a light chain whose amino acid sequence comprises or consists of SEQ ID NO: 7 or 8 without the signal sequence.

[0159] In one embodiment, a humanized antibody of this invention comprises a heavy chain comprising a variable domain (V_H) sequence of one of SEQ ID NOS: 9-14. In a related embodiment, the humanized antibody comprises a heavy chain whose amino acid sequence comprises or consists of one of SEQ ID NOS: 1-6 and 108. In one embodiment, the humanized antibody comprises a heavy chain whose amino acid sequence comprises or consists of one of SEQ ID NOS: 1-6 without the signal sequence, and optionally without the C-terminal lysine. In one embodiment, the humanized antibody comprises a heavy chain whose amino acid sequence comprises or consists of SEQ ID NO: 108 without the C-terminal lysine.

[0160] In some embodiments, a humanized antibody of this invention comprises a V_H and a V_L whose amino acid sequences comprise or consist of

a) SEQ ID NO: 9 and SEQ ID NO: 15;
b) SEQ ID NO: 10 and SEQ ID NO: 15;
c) SEQ ID NO: 11 and SEQ ID NO: 15;
d) SEQ ID NO: 12 and SEQ ID NO: 15;
e) SEQ ID NO: 13 and SEQ ID NO: 15;
f) SEQ ID NO: 14 and SEQ ID NO: 15;
g) SEQ ID NO: 9 and SEQ ID NO: 16;
h) SEQ ID NO: 10 and SEQ ID NO: 16;
i) SEQ ID NO: 11 and SEQ ID NO: 16;
j) SEQ ID NO: 12 and SEQ ID NO: 16;
k) SEQ ID NO: 13 and SEQ ID NO: 16; or
l) SEQ ID NO: 14 and SEQ ID NO: 16.

[0161] In one embodiment, a humanized antibody of this invention comprises a light chain (LC) and a heavy chain (HC) whose amino acid sequences comprise or consist of

a) SEQ ID NO: 1 and SEQ ID NO: 7;
b) SEQ ID NO: 2 and SEQ ID NO: 7;
c) SEQ ID NO: 3 and SEQ ID NO: 7;
d) SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 7;
e) SEQ ID NO: 5 and SEQ ID NO: 7;

f) SEQ ID NO: 6 and SEQ ID NO: 7;

g) SEQ ID NO: 1 and SEQ ID NO: 8;

h) SEQ ID NO: 2 and SEQ ID NO: 8;

i) SEQ ID NO: 3 and SEQ ID NO: 8;

j) SEQ ID NO: 4 and SEQ ID NO: 8;

k) SEQ ID NO: 5 and SEQ ID NO: 8;

l) SEQ ID NO: 6 and SEQ ID NO: 8,

m) SEQ ID NO: 108 and SEQ ID NO: 110; and

n) SEQ ID NO: 108 and SEQ ID NO: 112;

wherein the amino acid sequences lack the signal sequence, if present, and wherein SEQ ID NOS: 1-6 and SEQ ID NO: 108 optionally lack the C-terminal lysine.

[0162] The present invention provides any combination comprising an exemplified humanized heavy chain or an antigen-binding portion thereof, and an exemplified humanized light chain or an antigen-binding portion thereof, of the invention; in other words, the heavy and light chains can be "mixed and matched." It is understood that any such combination is likely to retain binding to human CCL20 as well as chemotaxis neutralizing activity. These functional properties can readily be tested using methods described herein. Indeed, FIG. 7 demonstrates the neutralizing activity of several combinations of exemplified humanized heavy and light chains of the invention.

[0163] This invention also provides anti-human CCL20 antibodies or antigen-binding portions thereof that bind to the same epitope as, and/or compete or cross-compete with, an antibody exemplified herein. These antibodies can be, for example, humanized, chimeric, or mouse antibodies. For example, the invention provides anti-human CCL20 antibodies and portions that bind to the same epitope as, and/or compete or cross-compete with, one of mouse anti-CCL20 antibodies 36F7C10, 40-1C10B9, and 42G5B10, or humanized or chimeric versions of these mouse antibodies. The ability of an antibody to bind to the same epitope as, or compete or cross-compete with, a reference antibody, can be determined as described herein. By way of nonlimiting example, any antibody or portion comprising the three heavy chain CDRs and the three light chain CDRs from mouse antibody 36F7C10 would be expected to bind to the same epitope as, compete with, and cross-compete with mouse antibody 36F7C10. Such antibodies may include, *e.g.*, antibodies whose heavy chain comprises any one of SEQ ID NOS: 9-11 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 15 or 16. In some embodiments, such antibodies may further include, *e.g.*, antibodies whose heavy chain comprises any one of SEQ ID NOS: 12-14 and whose light chain comprises SEQ ID NO: 15 or 16.

[0164] If desired, for example, for diagnostic or assay purposes (*e.g.*, imaging to allow, for example, monitoring of therapies), the humanized antibody (or an antigen-binding portion thereof) can comprise a detectable label. Suitable detectable labels and methods for labeling a humanized

antibody or antigen-binding portion thereof are well known in the art. Suitable detectable labels include, for example, a radioisotope (*e.g.*, as Indium-111, Technnetium-99m or Iodine-131), positron emitting labels (*e.g.*, Fluorine-19), paramagnetic ions (*e.g.*, Gadlinium (III), Manganese (II)), an epitope label (tag), an affinity label (*e.g.*, biotin, avidin), a spin label, an enzyme, a fluorescent group or a chemiluminescent group. When labels are not employed, complex formation (*e.g.*, between a humanized antibody and human CCL20) can be determined by surface plasmon resonance, ELISA, FACS, or other suitable methods.

[0165] Anti-CCL20 antibodies or antigen-binding portions thereof used in the invention also may be conjugated, for example, via chemical reactions or genetic modifications, to other moieties (*e.g.*, pegylation moieties) that improve the antibodies' pharmacokinetics such as half-life. In some embodiments, the anti-CCL20 antibodies used in this invention can be linked to a suitable cytokine, *e.g.*, via chemical conjugation or genetic modifications (*e.g.*, appending the coding sequence of the cytokine in frame to an antibody coding sequence, thereby creating an antibody:cytokine fusion protein).

[0166] The invention also relates to immunoconjugates in which the humanized antibody (or an antigen-binding portion thereof) of the invention is coupled to another therapeutic agent, such as a bioactive compound (*e.g.*, a cytokine, a superantigen, a cytotoxic agent or a toxin). For example, the humanized antibody that has binding specificity for human CCL20 (or an antigen binding portion thereof) can be coupled to a biological protein, a molecule of plant or bacterial origin (or derivative thereof), an interleukin-2 antibody or diptheria toxin antibodies.

[0167] As described herein, mouse monoclonal antibodies having binding specificity for human CCL20 have been produced. Humanized and chimeric antibodies of this invention can be derived from the mouse monoclonal antibodies of this invention. That is, in some embodiments, humanized and chimeric anti-CCL20 antibodies of the invention comprise sequences taken from a mouse monoclonal antibody of the invention, such as one or more CDR sequences (*e.g.*, all six CDR sequences) or one or more variable domains (*e.g.*, the heavy chain variable domain and the light chain variable domain).

[0168] As used herein, the term "mouse monoclonal antibody" refers to an antibody containing light chain CDRs (L-CDR1, L-CDR2 and L-CDR3) and heavy chain CDRs (H-CDR1, H-CDR2 and H-CDR3) of a murine antibody, and framework and constant regions of murine origin.

[0169] The invention relates to the mouse monoclonal antibodies described herein, as well as antigen-binding portions of the mouse monoclonal antibodies, the light chains of the mouse monoclonal antibodies, the heavy chains of the mouse monoclonal antibodies, and portions of these heavy and light chains. In a particular embodiment, the mouse monoclonal antibody is 36F7C10, 40-1C10B9, or 42G5B10. The invention relates to mouse monoclonal antibodies lacking the heavy and

light chain signal sequences and mouse monoclonal antibodies that are glycosylated. The invention also relates to precursor antibodies, nonglycosylated antibodies, and antibodies whose heavy and/or light chains comprise signal sequences. The invention also relates to nucleic acid molecules that encode any of the above mouse antibody heavy chains, light chains, or portions thereof; to vectors and host cells that comprise such nucleic acids; to methods of producing any of the above mouse heavy or light chains or portions thereof; and to methods of using the mouse antibodies or antigen-binding portions thereof.

[0170] The binding function of a mouse monoclonal antibody or antigen-binding portion thereof having binding specificity for human CCL20 can be detected using any suitable method, for example using assays which monitor formation of a complex between a mouse monoclonal antibody or portion and human CCL20 (or, *e.g.*, a peptide having an amino acid sequence of CCL20 or a solid support comprising human CCL20).

[0171] Also provided herein are portions of the murine antibodies which include light chains, heavy chains and portions of light and heavy chains. These antibody portions can be obtained or derived, *e.g.*, by means described herein for humanized antibody portions.

[0172] In one embodiment, a mouse monoclonal antibody of this invention comprises a light chain comprising SEQ ID NO: 40, 42, or 44 and further comprises a heavy chain comprising SEQ ID NO: 39, 41, or 43. In a certain embodiment, the mouse monoclonal antibody comprises a light chain comprising SEQ ID NO: 40 and a heavy chain comprising SEQ ID NO: 39; a light chain comprising SEQ ID NO: 42 and a heavy chain comprising SEQ ID NO: 41; or a light chain comprising SEQ ID NO: 44 and a heavy chain comprising SEQ ID NO: 43.

[0173] In another embodiment, the invention also relates to a mouse monoclonal antibody that has binding specificity for human CCL20, comprising the light chain variable region in a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 40, 42, and 44; and a heavy chain variable region in a sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 39, 41, and 43.

[0174] The invention also relates to a mouse monoclonal antibody whose light chain comprises the variable region in SEQ ID NO: 40, 42, or 44.

[0175] The invention also relates to a mouse monoclonal antibody whose heavy chain comprises the variable region in SEQ ID NO: 39, 41, or 43.

[0176] If desired, for example, for diagnostic or assay purposes (*e.g.*, imaging), the mouse monoclonal antibody or antigen binding portion thereof can comprise a detectable label *e.g.*, as described herein for humanized antibodies. All suitable methods and techniques described herein for humanized antibodies of this invention can also be used for mouse monoclonal antibodies of the invention.

[0177] As described herein, chimeric antibodies having binding specificity for human CCL20 have been produced. As used herein, the term "chimeric antibody" refers to a recombinant protein that contains the variable domains of an antibody derived from one species while the constant domains of the antibody are derived from a different species. In one embodiment, the chimeric antibody with binding specificity for human CCL20 comprises variable domains from a mouse anti-human CCL20 monoclonal antibody. In one embodiment, the chimeric antibody with binding specificity for human CCL20 comprises constant domains from a human antibody. In a particular embodiment, the chimeric antibody comprises variable domains from a mouse anti-human CCL20 monoclonal antibody and constant domains from a human antibody.

[0178] The invention relates to the chimeric antibodies described herein, as well as antigen-binding portions of the chimeric antibodies, the light chains and heavy chains of the chimeric antibodies, and portions of these light and heavy chains. The invention relates to chimeric antibodies lacking the heavy and light chain signal sequences and chimeric antibodies that are glycosylated. The invention also relates to precursor antibodies, nonglycosylated antibodies, and antibodies whose heavy and/or light chains comprise signal sequences. The invention also relates to nucleic acid molecules that encode any of the above chimeric antibody heavy chains, light chains, or portions thereof; to vectors and host cells that comprise such nucleic acids; to methods of producing these any of the above chimeric antibody heavy or light chains or portions thereof; and to methods of using the chimeric antibodies.

[0179] The binding function of a chimeric antibody having binding specificity for human CCL20 can be detected using any suitable method, for example using assays which monitor formation of a complex between a chimeric antibody and human CCL20 (or, *e.g.*, a peptide having an amino acid sequence of CCL20 or a solid support comprising human CCL20).

[0180] Also provided herein are portions of the chimeric antibodies which include light chains, heavy chains and portions of light and heavy chains. These antibody portions can be obtained or derived, *e.g.*, by means described herein for humanized antibody portions.

[0181] In one embodiment, a chimeric antibody of this invention comprises the light chain variable region of SEQ ID NO: 40 and the heavy chain variable region of SEQ ID NO: 39; the light chain variable region of SEQ ID NO: 42 and the heavy chain variable region of SEQ ID NO: 41; or the light chain variable region of SEQ ID NO: 44 and the heavy chain variable region of SEQ ID NO: 43.

[0182] The invention also relates to a chimeric antibody that has binding specificity for human CCL20, comprising a light chain variable region sequence selected from the group consisting of: the light chain variable region in SEQ ID NO: 40, 42, or 44; and further comprising a heavy chain variable region sequence selected from the group consisting of: the heavy chain variable region in SEQ ID NO: 39, 41, or 43.

[0183] The invention also relates to a chimeric light chain comprising the variable region in SEQ ID NO: 40, 42, or 44.

[0184] The invention also relates to a chimeric heavy chain comprising the variable region in SEQ ID NO: 39, 41, or 43.

[0185] If desired, for example, for diagnostic or assay purposes (*e.g.*, imaging), the chimeric antibody or antigen-binding portion thereof can comprise a detectable label, *e.g.*, as described herein for humanized antibodies. All suitable methods and techniques described herein for humanized antibodies of this invention can also be used for chimeric antibodies of the invention.

[0186] In some embodiments, the anti-CCL20 antibody of the invention is a fully human antibody. As used herein, the term "human antibody" means any antibody in which the variable and constant domain sequences are human sequences. The term encompasses antibodies with sequences derived from human genes, but which have been changed, *e.g.* to decrease possible immunogenicity, increase affinity, eliminate cysteines that might cause undesirable folding, etc. The term also encompasses such antibodies produced recombinantly in non-human cells, which might impart glycosylation not typical of human cells. Methods for preparing fully human antibodies are known in the art. For example, human anti-CCL20 antibodies may be identified through in vitro methods, such as phage display, ribosome display (CAT), yeast display, and the like, or may be produced from a human B-cell or a human hybridoma cell. Alternatively, human antibodies may be produced by immunizing with a CCL20 antigen any of a number of non-human, transgenic animals comprising within their genomes some or all of human immunoglobulin heavy chain and light chain loci. In some embodiments, the non-human animal comprising human immunoglobulin genes is an animal that has a human immunoglobulin "minilocus" (*e.g.*, GenPharm International, Inc.). In some embodiments, human anti-CCL20 antibodies are produced using a XENOMOUSE® (Abgenix, Inc., Fremont, CA), a HuMAb- Mouse® (Medarex, Inc.), a VelocImmune® mouse (Regeneron Pharmaaccuticals, Inc.), an AlivaMab Mouse (Ablexis, LLC), a KM™ mouse (Kirin Pharma USA, Inc.), or the like.

[0187] The present invention also relates to isolated and/or recombinant nucleic acids comprising sequences which encode a humanized antibody or a light chain or heavy chain thereof, mouse monoclonal antibody or a light chain or heavy chain thereof, chimeric antibody or a light chain or heavy chain thereof, or antigen-binding portions of any of the above, of the present invention. In some embodiments, the present invention provides a nucleic acid sequence selected from the group consisting of SEQ ID NOS: 17-32, 51-56, 109, 111, and 113.

[0188] In some embodiments, the nucleic acid molecules of the invention include nucleic acid sequences that hybridize under highly stringent conditions, or that are at least 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% or 99% identical, to one or more of the nucleic acid sequences recited herein or

to a nucleic acid sequence encoding the amino acid sequence of any of the provided V_H or V_L sequences.

[0189] Nucleic acids referred to herein as "isolated" or "purified" are nucleic acids which have been separated away from the nucleic acids of the genomic DNA or cellular RNA of their source of origin (*e.g.*, as they exist in cells or in a mixture of nucleic acids such as a library), and include nucleic acids obtained by methods described herein or other suitable methods. In some embodiments, the isolated nucleic acids are essentially pure nucleic acids, nucleic acids produced by chemical synthesis, nucleic acids produced by combinations of biological and chemical methods, or recombinant nucleic acids which are isolated (see, *e.g.*, Daugherty *et al., Nucleic Acids Res.* **19(9)**:2471-2476 (1991); Lewis and Crowe, *Gene* **101**:297-302 (1991)).

[0190] A reference to a nucleotide sequence encompasses its complement unless otherwise specified. Thus, a reference to a nucleic acid having a particular sequence should be understood to encompass its complementary strand, with its complementary sequence. The term "polynucleotide" as referred to herein means a polymeric, possibly isolated, form of nucleotides of at least 10 bases in length, either ribonucleotides or deoxynucleotides or a modified form of either type of nucleotide. The term includes single and double stranded forms.

[0191] Nucleic acids referred to herein as "recombinant" are nucleic acids which have been produced by recombinant DNA methodology, including those nucleic acids that are generated by procedures which rely upon a method of artificial recombination, such as the polymerase chain reaction (PCR) and/or cloning into a vector using restriction enzymes. In some embodiments, the recombinant nucleic acids result from recombination events that occur through the natural mechanisms of cells, but are selected for after the introduction into the cells of nucleic acids designed to allow and make probable a desired recombination event.

[0192] The present invention also relates more specifically to isolated and/or recombinant nucleic acids comprising a nucleotide sequence which encodes a humanized antibody, mouse antibody or chimeric antibody, or an antigen-binding portion of said antibody, that has binding specificity for human CCL20. In some embodiments, the antibody is a mouse antibody of the present invention, a humanized antibody of the present invention in which the nonhuman portion(s) are derived from a murine anti-CCL20 monoclonal antibody; or a chimeric antibody of the present invention in which the nonhuman portion(s) are derived from a murine anti-CCL20 monoclonal antibody.

[0193] In some embodiments, nucleic acids of the invention are used to produce humanized antibodies having binding specificity for human CCL20, mouse antibodies having binding specificity for human CCL20, and chimeric antibodies having binding specificity for human CCL20. For example, a nucleic acid (*e.g.*, DNA (such as cDNA) or RNA) or one or more nucleic acids encoding a humanized antibody, mouse antibody or chimeric antibody of the present invention can be

incorporated into a suitable construct (*e.g.*, a recombinant vector) for further manipulation of sequences or for production of the encoded antibodies in suitable host cells.

[0194] Constructs or vectors suitable for the expression of a humanized antibody having binding specificity for human CCL20, mouse antibody having binding specificity for human CCL20 or chimeric antibody having binding specificity for human CCL20 are also provided. A variety of vectors are available, including vectors which are maintained in single copy or multiple copies in a host cell, or which become integrated into the chromosome(s) of a host cell. The constructs or vectors can be introduced into a suitable host cell, and cells which express a humanized antibody, mouse antibody or chimeric antibody of the present invention, can be produced and maintained in culture. A single vector or multiple vectors can be used for the expression of a humanized antibody, mouse antibody or chimeric antibody having binding specificity for human CCL20.

[0195] Suitable expression vectors, for example mammalian cell expression vectors, can also contain a number of components, including, but not limited to, one or more of the following: an origin of replication; a selectable marker gene; one or more expression control elements such as a transcriptional control element (*e.g.*, a promoter, an enhancer, a terminator), one or more translation signals; and/or a signal sequence or leader sequence (encoding a "signal peptide") for membrane targeting or secretion. In a construct or vector, a signal sequence can be provided by the construct or vector or other source. For example, transcriptional and/or translational signals can be used to direct expression.

[0196] In some embodiments, a promoter is provided for expression of an antibody or antibody chain of the invention in a suitable host cell. In some embodiments, the promoter is constitutive. In some embodiments, the promoter is inducible. The promoter may be operably linked to a nucleic acid encoding an antibody or antibody chain, or an antigen-binding portion of said antibody or chain, such that it directs expression of the encoded polypeptide. A variety of suitable promoters for prokaryotic (*e.g.*, lac, tac, T3, T7 promoters for *E. coli)* and eukaryotic (*e.g.*, yeast alcohol dehydrogenase (ADH1), SV40, CMV) hosts are available. Those of skill in the art will be able to select the appropriate promoter for expressing an anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof of the invention.

[0197] In some embodiments the vector encoding an antibody or antibody chain of the invention comprises a selectable marker for selection of host cells carrying the vector. In some embodiments, the selectable marker is a gene encoding a product that confers antibiotic or drug resistance that may be used in prokaryotic cells (*e.g.*, β-lactamase gene (ampicillin resistance), Tet gene (tetracycline resistance), etc.) and eukaryotic cells (*e.g.*, neomycin (G418 or geneticin), gpt (mycophenolic acid), ampicillin, or hygromycin resistance genes). In some embodiments, the selectable marker is dihydrofolate reductase, permitting selection with methotrexate in a variety of hosts. In some embodiments, the selectable marker is a gene encoding an auxotrophic marker of the host (*e.g.*, *LEU2, URA3, HIS3)*, *e.g.*, for use

in yeast. In some embodiments, the vector is a viral (*e.g.*, baculovirus) or phage vector. In one embodiment, the vector is capable of integrating into the genome of the host cell (*e.g.*, retroviral vector). In some embodiments, the vector is a replicable vector and comprises an origin of replication.

[0198] The invention thus relates to isolated nucleic acid molecules that encode the humanized antibody, humanized light chain, humanized heavy chain, mouse antibody, mouse antibody light chain, mouse antibody heavy chain, chimeric antibody, chimeric light chain, or chimeric heavy chain of this invention. The invention also relates to isolated nucleic acid molecules that encode an antigen-binding portion of any of these antibodies or their chains. Polypeptide sequences encoded by the nucleic acids of this invention are described above and in the following Examples.

[0199] In some embodiments, a nucleic acid or vector of this invention encodes a heavy chain (or an antigen-binding portion thereof) or a light chain (or an antigen-binding portion thereof) of the invention. A host cell containing both the heavy chain-encoding nucleic acid and the light chain-encoding nucleic acid, or nucleic acids encoding antigen-binding portions of said heavy chain and said light chain, can be used to make an antibody comprising a heavy and a light chain (or an antigen-binding portion of the antibody). The heavy chain-encoding nucleic acid and the light chain-encoding nucleic acid can be placed on separate expression vectors. They can also be placed on a single expression vector under the same or different expression control. *See, e.g.*, U.S. Patent Nos. 6,331,415 and 7,662,623.

[0200] Another aspect of the invention relates to a method of making an anti-human CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof of the invention. The antibody or portion can be produced, for example, by the expression of one or more recombinant nucleic acids encoding the antibody or portion in a suitable host cell. The host cell can be produced using any suitable method. For example, one or more expression constructs described herein can be introduced into a suitable host cell, and the resulting cell can be maintained under conditions suitable for expression of the construct(s) or vector(s). In some embodiments, the resulting cell is maintained in culture, in an animal, or in a plant. Suitable host cells can be prokaryotic, including bacterial cells such as *E. coli* (*e.g.*, strain DH5α™ (Invitrogen, Carlsbad, CA)), *B. subtilis* and/or other suitable bacteria; eukaryotic cells, such as fungal or yeast cells (*e.g.*, *Pichia pastoris*, *Aspergillus sp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Neurospora crassa*), or other lower eukaryotic cells, and cells of higher eukaryotes such as those from insects (*e.g.*, *Drosophila* Schneider S2 cells, Sf9 insect cells (WO 94/26087 (O'Connor), TN5B1-4 (HIGH 5) insect cells (Invitrogen), mammals (*e.g.*, COS cells, such as COS-1 (ATCC Accession No. CRL-1650) and COS-7 (ATCC Accession No. CRL-1651), CHO (*e.g.*, ATCC Accession No. CRL-9096), CHO DG44 (Urlaub and Chasin., *Proc. Natl. Acac. Sci. USA* **77(7)**:4216-4220 (1980)), 293 (ATCC Accession No. CRL-1573), HeLa (ATCC Accession No. CCL-2), CV1 (ATCC Accession No. CCL-70), WOP (Dailey *et al.*, *J. Virol.* **54**:739-749 (1985)), 3T3, 293T (Pear *et al.*, *Proc. Natl.*

Acad. Sci. U.S.A. **90**:8392-8396 (1993)), NS0 cells, SP2/0 cells, HuT 78 cells and the like)), or plants (*e.g.*, tobacco, lemna (duckweed), and algae). (See, for example, Ausubel *et al.*, eds. *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates and John Wiley & Sons Inc. (1993)). In some embodiments, the host cell is not part of a multicellular organism (*e.g.*, plant or animal). In certain embodiments, the host cell is an isolated host cell or is part of a cell culture.

[0201] The present invention also relates to cells comprising a nucleic acid or a vector of the invention. In some embodiments, the vector is an expression vector. In some embodiments, one or more nucleic acids encoding the heavy and light chains of a humanized antibody or antigen-binding portion thereof, the heavy and light chains of a mouse antibody or antigen-binding portion thereof, or the heavy and light chains of a chimeric antibody or antigen-binding portion thereof, said antibody or portion having binding specificity for human CCL20, or one or more constructs comprising such nucleic acid(s), can be introduced into a suitable host cell by a method appropriate to the host cell selected. In some embodiments, the method of introduction is, *e.g.*, transformation, transfection, electroporation, or infection. In some embodiments, the nucleic acid(s) are operably linked to one or more expression control elements. In certain embodiments, the nucleic acid(s) are in a vector, in a construct created by processes in the cell, or integrated into the host cell genome. Host cells can be maintained under conditions suitable for expression. In some embodiments, these conditions comprise the presence of an inducer, or of suitable media (supplemented with, *e.g.*, appropriate salts, growth factors, antibiotic, nutritional supplements, etc.), whereby the encoded polypeptide(s) are produced. These processes encompasses expression in a host cell (*e.g.*, a mammary gland cell) of a transgenic animal or plant (*e.g.*, tobacco) (see *e.g.*, WO 92/03918). In some embodiments, the antibodies or portions are isolated from the host cells, culture medium, or milk.

[0202] The invention also relates to fusion proteins in which an antibody or portion of the invention (*e.g.*, a humanized antibody or portion) is linked to another moiety (*e.g.*, a moiety which does not occur in antibodies as found in nature) in an N-terminal location, C-terminal location or internal to the fusion protein. In some embodiments, the fusion protein can be produced by the insertion of a nucleic acid encoding an antibody sequence(s) into a suitable expression vector, such as a pET vector (*e.g.*, pET-15b, Novagen), a phage vector (*e.g.*, pCANTAB 5 E, Pharmacia), or other vector (*e.g.*, pRIT2T Protein A fusion vector, Pharmacia). The resulting construct can be introduced into a suitable host cell for expression. In some embodiments, the expressed fusion proteins are isolated or purified from a cell lysate by means of a suitable affinity matrix (see, *e.g.*, *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel *et al.*, Eds., Vol. 2, Suppl. 26, pp. 16.4.1-16.7.8 (1991))).

[0203] The invention relates to a host cell that comprises recombinant nucleic acid(s) encoding an antibody or portion, or heavy and/or light chains thereof, provided herein (*e.g.*, a humanized antibody, a humanized light chain or a humanized heavy chain, a mouse antibody, a mouse light chain or a

mouse heavy chain, a chimeric antibody, or a chimeric heavy chain or a chimeric light chain, of the invention). The invention also relates to a host cell that comprises recombinant nucleic acid(s) encoding an antigen-binding portion of the antibody or its chains. In some embodiments, the host cell comprises a recombinant vector of the invention as referred to herein. In some embodiments, said recombinant vector is an expression vector. In certain embodiments, said recombinant vector is a mammalian cell expression vector.

[0204] The invention also relates to a method of preparing an antibody or portion, or a heavy or light chain thereof, of this invention. In one embodiment, the method comprises maintaining a host cell of the invention as described herein under conditions appropriate for expression of the antibody or portion or heavy and/or light chain thereof. In some embodiments, the host cell contains one or more isolated nucleic acids that encode the antibody or portion, or heavy and/or light chain thereof, of the invention. In some embodiments, the host cell is cultured on a substrate or in suspension. In some embodiments, the method further comprises the step of purifying or isolating the antibody or antibody chain.

[0205] The invention further relates to a method of preparing antibodies or antigen-binding portions thereof through phage display. In some embodiments, a naïve antibody phage display library on CCL20 antigen is panned. In some embodiments, a method of preparing antibodies through guided selection is used (see, *e.g.*, U.S. Patent Publication No. US 2006-0251658 A1). In certain embodiments, a custom library built around, for example, a fixed heavy chain (and/or light chain) CDR3 region of a known anti-CCL20 antibody is created. The CDR1 and CDR2 regions of the heavy and light chains can be derived from a naïve repertoire (Osburn *et al., Methods* **36**:61-68 (2005)). In one embodiment, anti-CCL20 scFvs are generated from scFv naïve antibody libraries which are used to obtain mouse-human chimeric antibodies with the desired binding properties. These libraries may be screened for antibodies with the desired binding properties. In some embodiments, scFv phage libraries are used. In certain embodiments, scFvs which recognize human CCL20 are isolated from scFv guided selection libraries following a series of repeated selection cycles on recombinant human CCL20 essentially as described in Vaughan *et al. Nature Biotech.* **14**:309-314 (1996). In brief, following incubation with the library, the immobilized antigen, which is pre-coupled to paramagnetic beads, and bound phage can be recovered by magnetic separation while unbound phage is washed away. Bound phage can then be rescued as described by Vaughan *et al.* (1996; *supra*) and the selection process repeated.

[0206] In a particular embodiment, a library is constructed consisting of the entire variable domain of the heavy chain of a mouse anti-CCL20 antibody fused in a single chain format to a repertoire of naïve human light chain variable regions. After selection, the human light chain variable regions that complement the mouse heavy chain variable regions are identified. A library is then constructed

consisting of the repertoire of human light chain variable regions selected as described above fused in a single chain format to a chimeric heavy chain variable region consisting of naïve human CDR1 and CDR2 regions and a fixed CDR3 region from the mouse anti-CCL20 antibody heavy chain variable domain. After selection for CCL20 binders, the best binding clones are selected. Five of the six CDR regions can be human in origin while the CDR3 of the heavy chain variable region can be identical to the original CDR3 of the mouse heavy chain variable domain.

[0207] In some embodiments, selections are performed using CCL20 coupled to DYNABEADS M-270 amine (Dynal) according to the manufacturer's recommendations. In some embodiments, selections using biotinylated CCL20 can be prepared using the primary amine specific reagent succinimidyl-6-(biotinamido) hexanoate following the manufacturer's instructions (EZ link NHS LC Biotin, Pierce).

[0208] In some embodiments outputs from selections are tested as periplasmic preparations in high throughput screens based on competition assays which measure the ability of the scFvs present in the periplasmic preparation to compete for binding to CCL20.

[0209] Samples that are able to compete in the high throughput screens may be subjected to DNA sequencing as described in Vaughan *et al.* (1996; *supra*) and Osburn *et al.* (2005; *supra*). Clones may then be expressed and purified as scFvs or IgGs and assessed for their ability to bind CCL20, neutralize CCL20 or a combination thereof, *e.g.*, using assays such as antibody-dependent cell mediated cytotoxicity (ADCC) assay and complement dependent cytotoxicity (CDC) assay. Purified scFv preparations can then be prepared as described in Example 3 of WO 01/66754. Protein concentrations of purified scFv preparations were determined using the BCA method (Pierce). Similar approaches can be used to screen for an optimal partner (the opposite chain) of a fixed full-length antibody heavy or light chain or heavy or light chain variable domain.

[0210] In another embodiment, an anti-human CCL20 antibody or an antigen-binding portion thereof, as described herein, is first used to select heavy and light chain sequences having similar binding activity toward CCL20, using the epitope imprinting methods described in PCT Publication No. WO 93/06213, incorporated herein by reference. In certain embodiments, the antibody libraries used in this method are scFv libraries prepared and screened as described in PCT Publication No. WO 92/01047, McCafferty *et al.*, *Nature* **348**:552-554 (1990); and Griffiths *et al.*, *EMBO J.* **12**:725-734 (1993), all incorporated herein by reference. In certain embodiments, the scFv antibody libraries are screened using human CCL20 as the antigen.

[0211] Once initial V_L and V_H domains are selected, "mix and match" experiments can be performed, in which different pairs of the initially selected V_L and V_H segments are screened for CCL20 binding to select preferred V_L/V_H pair combinations. Additionally, to further improve the quality of the antibody, the V_L and V_H segments of the preferred V_L/V_H pair(s) can be randomly

mutated in a process analogous to the *in vivo* somatic mutation process responsible for affinity maturation of antibodies during a natural immune response. In some embodiments, the random mutations occur within the CDR3 region of V_H and/or V_L. In certain embodiments, this *in vitro* affinity maturation is accomplished by, *e.g.*, amplifying V_H and V_L domains using PCR primers complimentary to the V_H CDR3 or V_L CDR3, respectively, wherein the primers have been "spiked" with a random mixture of the four nucleotide bases at certain positions such that the resultant PCR products encode V_H and V_L segments into which random mutations have been introduced into the V_H and/or V_L CDR3 regions. These randomly mutated V_H and V_L segments can be re-screened for binding to CCL20.

[0212] Following screening and isolation of an anti-CCL20 antibody of the invention from a recombinant antibody display library, nucleic acids encoding the selected antibody can be recovered from the display package (*e.g.*, from the phage genome) and subcloned into other expression vectors by standard recombinant DNA techniques. In some embodiments, the nucleic acid is further manipulated to create other antibody forms of the invention, as described herein. In certain embodiments, to express a recombinant human antibody isolated by screening of a combinatorial library, the DNA encoding the antibody is cloned into a recombinant expression vector and introduced into mammalian host cells, as described herein.

[0213] In a particular embodiment, the invention provides a method of producing a hybridoma that secretes a monoclonal antibody that has binding specificity for human CCL20, comprising administering lymphocytes of a CCL20 transgenic mouse to a non-transgenic mouse having the same strain (*e.g.*, CD1) as the human CCL20 transgenic mouse, thereby producing an immunized, non-transgenic mouse. Splenocytes of the immunized, non-transgenic mouse are contacted with immortalized cells, thereby producing fused cells, and the fused cells are maintained under conditions in which hybridomas that secrete a monoclonal antibody having binding specificity for human CCL20 are produced, thereby producing a hybridoma that secretes a monoclonal antibody that has binding specificity for human CCL20.

[0214] The present invention also provides methods of preparing mutated forms of the anti-CCL20 antibodies and antigen-binding portions thereof of the invention. In some embodiments, the antibodies or portions are mutated in the variable domains of the heavy and/or light chains. In certain embodiments, said mutation alters one or more binding properties of the antibody or portion. In particular embodiments, a mutation is made in one or more of the CDR regions to increase or decrease the K_D of the anti-CCL20 antibody or portion, to increase or decrease k_{off}, or to alter the binding specificity of the antibody or portion. Techniques in site-directed mutagenesis are well-known in the art. See *e.g.* Sambrook *et al.* and Ausubel *et al.*, *supra*. In another embodiment, one or more mutations are made at an amino acid residue that is known to be changed compared to the

germline in a monoclonal antibody of the invention. In certain embodiments, the mutations are made in a CDR region or framework region of a variable domain, or in a constant domain. In a particular embodiment, the mutations are made in a variable domain. In some embodiments, one or more mutations are made at an amino acid residue that is known to be changed compared to the germline in a CDR region or framework region of a variable domain of an antibody or portion of the invention.

[0215] In another embodiment, the framework region is mutated so that the resulting framework region(s) have the amino acid sequence of the corresponding germline gene. In certain embodiments, one or more mutations are made in a framework region or constant domain to increase the half-life of the anti-CCL20 antibody or portion. See *e.g.* PCT Publication WO 00/09560. In certain embodiments, a mutation in a framework region or constant domain is made to alter the immunogenicity of the antibody, or to provide a site for covalent or non-covalent binding to another molecule. According to the invention, a single antibody or portion may have mutations in any one or more of the CDRs or framework regions of the variable domain or in the constant domain.

[0216] Anti-CCL20 antibodies or antigen-binding portions thereof of the invention also can be produced transgenically through the generation of a mammal or plant that is transgenic for the antibody heavy and light chain sequences of interest and production of the antibody in a recoverable form therefrom. In some embodiments, the anti-CCL20 antibodies or portions are produced in, and recovered from, the milk of goats, cows, or other mammals. See, *e.g.*, U.S. Patent Nos. 5,827,690, 5,756,687, 5,750,172, and 5,741,957. In some embodiments, non-human transgenic animals that comprise human antibody loci are immunized with human CCL20 or an immunogenic portion thereof, as described above. Methods for making antibodies in plants are described, *e.g.*, in U.S. Patent Nos. 6,046,037 and 5,959,177.

[0217] In some embodiments, non-human transgenic animals or plants are produced by introducing one or more nucleic acid molecules encoding an anti-CCL20 antibody or portion of the invention into the animal or plant by standard transgenic techniques. See Hogan and U.S. Patent No. 6,417,429, *supra*. In certain embodiments, transgenic cells used for making the transgenic animal can be embryonic stem cells or somatic cells or a fertilized egg. In some embodiments, the non-human transgenic animals or plants are chimeric, nonchimeric heterozygotes, or nonchimeric homozygotes. See, *e.g.*, Hogan *et al.*, *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual* 2nd ed., Cold Spring Harbor Press (1999); Jackson *et al.*, *Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach*, Oxford University Press (2000); and Pinkert, *Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook*, Academic Press (1999). In some embodiments, the non-human transgenic animals or plants have a targeted disruption and replacement by a targeting construct that encodes a heavy chain and/or a light chain of interest. In certain embodiments, the transgenic animals or plants comprise and express nucleic acid molecules encoding heavy and light chains that specifically bind to human CCL20. The

anti-CCL20 antibodies or portions may be made in any non-human transgenic animal or plant. In particular embodiments, the non-human animals are mice, rats, sheep, pigs, goats, cattle or horses. The non-human transgenic animal may express the encoded polypeptides in blood, milk, urine, saliva, tears, mucus and other bodily fluids.

[0218] The antibodies and antigen-binding portions thereof of the invention are useful in neutralizing CCL20-induced chemoattraction of, *e.g.*, CCR6+ cells such as immature dendritic cells (DC), effector/memory T-cells, and B-cells. The antibodies and portions may thus be useful in treating a variety of diseases and conditions such as inflammation, autoimmune diseases, and cancer. Examples of diseases and conditions that can be treated with the antibodies or antigen-binding portions of this invention include, without limitation, Grave's disease, vitiligo, hyperthyroidism, rheumatoid arthritis, psoriasis, atopic dermatitis, contact dermatitis, Crohn's disease, inflammatory bowel disease, B-cell malignancies, breast adenocarcinoma, chronic hepatitis, contact dermatitis, glioblastoma, hepatocellular carcinoma, human papillomavirus infection of the cervix, mycosis fungoides, pancreatic adenocarcinoma, periodontal disease, thyroid papillary carcinoma, pustulosis palmaris et plantaris, conditions associated with maculopapular exanthema, epidermolysis bullosa, alopecia areata, multiple sclerosis, polymyositis, dermatomyositis, Behcet's disease, acute generalized exanthematous pustulosis, vasculitides, juvenile idiopathic arthritis, sarcoidosis, bronchial asthma, allergic rhinitis, renal allograft rejection, graft-versus-host disease, liver allograft rejection, chronic obstructive pulmonary disease, cystic fibrosis, glomerulonephritis, respiratory syncytial virus infection, multiple myeloma, and Langerhans cell histiocytosis. In some embodiments, the invention provides methods for treating any CCR6-associated condition.

[0219] Accordingly, the invention provides methods for treating inflammation, an autoimmune disease, or cancer by administering an effective amount of an antibody or portion of the invention to a subject in need thereof. In some embodiments, the subject is a human patient having or at risk for having an autoimmune disease, a cancer, and/or inflammation. In some embodiments, the antibody or portion is administered prophylactically to prevent onset or relapse of inflammation, autoimmune disease, or cancer.

[0220] Antibodies and antigen-binding portions thereof of this invention can be administered to an individual (*e.g.*, a human) alone or in conjunction with another agent in a combination therapy. The antibodies or portions can be administered before, as an admixture with, separately but concurrently with, or subsequent to administration of the additional agent. In some embodiments, the additional agent is selected from the group including, but not limited to: inhibitors of immuno-stimulatory cytokines (*e.g.*, anti-TNF-α MAbs), immune cell eliminators (*e.g.*, anti-CD20 MAbs), blockers of accessory molecules (*e.g.* Abatacept), disease-modifying agents for rheumatic diseases (*e.g.*, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), methotrexate, retinoic acids, and vitamin D3 analogs), and immunosuppressants

(*e.g.*, calcineurin inhibitors). In some embodiments, the additional agent is selected from the group including, but not limited to: steroidal agents, immunomodulatory agents, somatostatic agents, conventional immunotherapeutic agents, cytokines or cytokine antagonists, and/or growth factors or growth factor antagonists. In some embodiments, anti-CCL20 antibody therapy can be used in conjunction with standard-of-care cancer treatment such as chemotherapy, surgery, or radiation, or with another targeted therapy such as anti-VEGF antibody therapy. In some embodiments, anti-CCL20 antibody therapy can be used in conjunction with a prophylactic regimen. In one embodiment, a synthetic peptide mimetic can be administered in conjunction with an antibody of the present invention. In another embodiment, hormone therapy can be administered in conjunction with an antibody or portion of the present invention.

[0221] In one embodiment, the antibodies or antigen-binding portions of the invention are administered alone or in combination with an anti-inflammatory agent. Anti-inflammatory agents that may be administered with the antibodies of the invention include, but are not limited to, corticosteroids (*e.g.* betamethasone, budesonide, cortisone, dexamethasone, hydrocortisone, methylprednisolone, prednisolone, prednisone, and triamcinolone), nonsteroidal anti-inflammatory drugs (*e.g.*, balsalazide, celecoxib, diclofenac, diflunisal, etodolac, fenoprofen, floctafenine, flurbiprofen, ibuprofen, indomethacin, ketoprofen, meclofenamate, mefenamic acid, meloxicam, nabumetone, naproxen, olsalazine, oxaprozin, phenylbutazone, piroxicam, salsalate, sulindac, tenoxicam, tiaprofenic acid, and tolmetin), as well as acetaminophen, antihistamines, aminoarylcarboxylic acid derivatives, arylacetic acid derivatives, arylbutyric acid derivatives, arylcarboxylic acids, arylpropionic acid derivatives, pyrazoles, pyrazolones, salicylic acid derivatives (*e.g.* sulfasalazone and mesalamine), thiazinecarboxamides, e-acetamidocaproic acid, S-adenosylmethionine, 3-amino-4-hydroxybutyric acid, amixetrine, bendazac, benzydamine, bucolome, difenpiramide, ditazol, emorfazone, guaiazulene, nabumetone, nimesulide, orgotein, oxaceprol, paranyline, perisoxal, pifoxime, proquazone, proxazole, and tenidap.

[0222] Conventional nonspecific immunosuppressive agents that may be administered in combination with the antibodies of the invention include, but are not limited to, steroids, cyclosporine, cyclosporine analogs, cyclophosphamide methylprednisone, prednisone, azathioprine, FK-506, 15-deoxyspergualin, natalizumab, and other immunosuppressive agents that act by suppressing the function of responding T cells.

[0223] In some embodiments, the antibodies or antigen-binding portions of the invention are administered in combination with immunosuppressants. Immunosuppressant preparations that may be administered with the antibodies of the invention include, but are not limited to, ORTHOCLONE™ (OKT3), SANDIMMUNE™/NEORAL™/SANGDYA™ (cyclosporin), PROGRAF™ (tacrolimus), CELLCEPT™ (mycophenolate), Azathioprine, glucorticosteroids, AVONEX™ (interferon-beta 1A),

and RAPAMUNE™ (sirolimus). In one embodiment, immunosuppressants may be used to prevent rejection of organ or bone marrow transplantation.

[0224] In some embodiments, the antibodies or antigen-binding portions of the invention are administered in combination with a chemotherapeutic agent. Chemotherapeutic agents that may be administered with the antibodies of the invention include, but are not limited to, antibiotic derivatives (*e.g.*, doxorubicin, bleomycin, daunorubicin, and dactinomycin); antiestrogens (*e.g.*, tamoxifen); antimetabolites (*e.g.*, fluorouracil, 5-FU, floxuridine, interferon alpha-2b, glutamic acid, plicamycin, mercaptopurine, and 6-thioguanine); cytotoxic agents (*e.g.*, carmustine, BCNU, lomustine, CCNU, cytosine arabinoside, cyclophosphamide, estramustine, hydroxyurea, procarbazine, mitomycin, busulfan, cis-platin, and vincristine sulfate); hormones (*e.g.*, medroxyprogesterone, estramustine phosphate sodium, ethinyl estradiol, estradiol, epinephrine, megestrol acetate, methyltestosterone, diethylstilbestrol diphosphate, chlorotrianisene, and testolactone); nitrogen mustard derivatives (*e.g.*, mephalen, chorambucil, mechlorethamine (nitrogen mustard) and thiotepa); steroids and combinations (*e.g.*, bethamethasone sodium phosphate); and others (*e.g.*, dicarbazine, asparaginase, mitotane, vincristine sulfate, vinblastine sulfate, rituximab, and etoposide).

[0225] In some embodiments, the antibodies or antigen-binding portions of the invention are administered in combination with a TNF antagonist. TNF antagonists that may be administered with the antibodies or antigen-binding portions of the invention include, but are not limited to, infliximab (REMICADE™), adalimumab (HUMIRA™), certolizumab pegol (CIMZIA™), golimumab (SIMPONI™), etanercept (ENBREL™), xanthine deriviatives (*e.g.* pentoxifyline) and bupropion (WELLBURTIN™, ZYBAN™).

[0226] In some embodiments, the antibodies or antigen-binding portions of the invention are administered alone or in combination with one or more intravenous immune globulin preparations. Intravenous immune globulin preparations that may be administered with the antibodies or portions of the invention include, but not limited to, GAMMAR™, IVEEGAM™, SANDOGLOBULIN™, GAMMAGARD S/D™, and GAMIMUNE™. In some embodiments, the antibodies or antigen-binding portions of the invention are administered in combination with intravenous immune globulin preparations in transplantation therapy (*e.g.*, bone marrow transplant).

[0227] In some embodiments, the antibodies or antigen-binding portions of the invention are administered in combination with cytokines or cytokine antagonists. In some embodiments, the antibodies or antigen-binding portions of the invention may be administered with any cytokine or cytokine antagonist, including, but not limited to, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL7, IL10, IL12, IL13, IL15, anti-CD40, CD40L, IFN-γ and TNF-α or any antagonist thereof. In some embodiments, the antibodies or antigen-binding portions of the invention may be administered with any interleukin or interleukin antagonist, including, but not limited to, IL-1alpha, IL-1beta, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6,

IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, and IL-21 or any antagonist thereof.

[0228] In some embodiments, the antibodies or antigen-binding portions of the invention are administered in combination with one or more chemokines or chemokine antagonists. In specific embodiments, the antibodies or antigen-binding portions of the invention are administered in combination with an α(CxC) chemokine selected from the group consisting of gamma-interferon inducible protein-10 (γIP-10), interleukin-8 (IL-8), platelet factor-4 (PF4), neutrophil activating protein (NAP-2), GRO-α, GRO-β, GRO-γ, neutrophil-activating peptide (ENA-78), granulocyte chemoattractant protein-2 (GCP-2), and stromal cell-derived factor-1 (SDF-1, or pre-B cell stimulatory factor (PBSF)); and/or a β(CC) chemokine selected from the group consisting of: RANTES (regulated on activation, normal T expressed and secreted), macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1α), macrophage inflammatory protein-1 beta (MIP-1β), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), monocyte chemotactic protein-2 (MCP-2), monocyte chemotactic protein-3 (MCP-3), monocyte chemotactic protein-4 (MCP-4) macrophage inflammatory protein-1 gamma (MIP-1γ), macrophage inflammatory protein-3 alpha (MIP-3α), macrophage inflammatory protein-3 beta (MIP-3β), macrophage inflammatory protein-4 (MIP-4/DC-CK-1/PARC), eotaxin, Exodus, and I-309; and/or the γ(C) chemokine, lymphotactin; or any antagonist thereof.

[0229] In some embodiments, the antibodies or antigen-binding portions of the invention are administered with chemokine beta-8, chemokine beta-1, and/or macrophage inflammatory protein-4, or any antagonist thereof. In a preferred embodiment, the antibodies or antigen-binding portions of the invention are administered with chemokine beta-8 or an antagonist thereof.

[0230] In some embodiments, the antibodies or antigen-binding portions of the invention are administered in combination with an IL-4 antagonist. IL-4 antagonists that may be administered with the antibody and antibody compositions of the invention include, but are not limited to: soluble IL-4 receptor polypeptides, multimeric forms of soluble IL-4 receptor polypeptides, anti-IL-4 receptor antibodies that bind the IL-4 receptor without transducing the biological signal elicited by IL-4, anti-IL4 antibodies that block binding of IL-4 to one or more IL-4 receptors, and muteins of IL-4 that bind IL-4 receptors but do not transduce the biological signal elicited by IL-4. Preferably, the anti-IL4 antibodies employed according to this method are monoclonal antibodies; antigen-binding portions thereof may also be employed.

[0231] In some embodiments, the antibodies or antigen-binding portions of the invention are administered in combination with members of the TNF family, or antagonists thereof. In some embodiments, the antibodies or antigen-binding portions of the invention are administered in combination with agents that include, but are not limited to, soluble forms of TNF-α, lymphotoxin-alpha (LT-alpha, also known as TNF-beta), LT-beta (found in complex heterotrimer LT-alpha2-beta),

OPGL, FasL, CD27L, CD30L, CD40L, 4-1BBL, DcR3, OX40L, TNF-gamma (International Publication No. WO 96/14328), AIM-I (International Publication No. WO 97/33899), endokine-alpha (International Publication No. WO 98/07880), OPG, neutrokine-alpha (International Publication No. WO 98/18921), OX40, nerve growth factor (NGF), soluble forms of Fas, CD30, CD27, CD40 4-IBB, TR2 (International Publication No. WO 96/34095), DR3 (International Publication No. WO 97/33904), DR4 (International Publication No. WO 98/32856), TR5 (International Publication No. WO 98/30693), TR6 (International Publication No. WO 98/30694), TR7 (International Publication No. WO 98/41629), TRANK, TR9 (International Publication No. WO 98/56892),TR10 (International Publication No. WO 98/54202), 312C2 (International Publication No. WO 98/06842), TR12, and soluble forms CD154, CD70, and CD153; or any antagonist thereof.

[0232] As used herein, the term "therapeutically effective amount" refers to an amount of the administered therapeutic agent that will relieve or prevent to some extent one or more of the symptoms of the disorder being treated. An effective amount of anti-CCL20 antibody or antigen-binding portion thereof for treating a disease is an amount that helps the treated subject to reach one or more desired clinical end points.

[0233] In some embodiments, to minimize immunogenicity, a humanized antibody or portion is used to treat a human patient in therapeutic methods and compositions of this invention. In cases where repeated administration is not necessary, in some embodiments, it may also be appropriate to administer a mouse or chimeric antibody or portion of the invention to a human patient.

[0234] In some embodiments, the antibodies or antigen-binding portions thereof of the invention may be used to treat an individual who has previously been treated with, *e.g.*, inhibitors of immuno-stimulatory cytokines (*e.g.*, anti-TNF-α MAbs), immune cell eliminators (*e.g.*, anti-CD20 MAbs), and/or blockers of accessory molecules (*e.g.* Abatacept). In some embodiments, the antibodies or portions are used to treat a patient who has developed primary non-responsiveness or a gradual decline in response rate to these other treatments.

[0235] The antibody or antigen-binding portion thereof of this invention can be administered in a single unit dose or multiple doses at any time point deemed appropriate by a health care provider. The dosage can be determined by methods known in the art and can be dependent, for example, upon the individual's age, sensitivity, tolerance and overall well-being. Any administration method accepted in the art may be employed suitably for the antibodies and portions of the invention, including, but not necessarily limited to, parenteral (*e.g.*, intravenous, intraarterial, intramuscular, intrathecal, intraperitoneal, subcutaneous injection), oral (*e.g.*, dietary), locally, topical, inhalation (*e.g.*, intrabronchial, intranasal or oral inhalation, intranasal drops), or rectal, depending on the disease or condition to be treated. In one embodiment, the antibody or portion is administered parenterally.

[0236] Formulation will vary according to the route of administration selected (*e.g.*, solution, emulsion). An appropriate composition comprising the antibody or portion to be administered can be prepared in a physiologically acceptable vehicle or carrier. The composition can comprise multiple doses or be a single unit dose composition. For solutions or emulsions, suitable carriers include, for example, aqueous or alcoholic/aqueous solutions, emulsions, or suspensions, including saline and buffered media. Parenteral vehicles can include sodium chloride solution, Ringer's dextrose, dextrose and sodium chloride, lactated Ringer's or fixed oils. Intravenous vehicles can include various additives, preservatives, or fluid, nutrient or electrolyte replenishers (See, generally, *Remington's Pharmaceutical Sciences,* 17th Edition, Mack Publishing Co., PA, 1985). For inhalation, the compound can be solubilized and loaded into a suitable dispenser for administration (*e.g.*, an atomizer, nebulizer or pressurized aerosol dispenser).

[0237] Dosage regimens may be adjusted to provide the optimum desired response. In certain embodiments, a single bolus may be administered, several divided doses may be administered over time, or the dose may be proportionally reduced or increased as indicated by the exigencies of the therapeutic situation. It is especially advantageous to formulate parenteral compositions in dosage unit form for ease of administration and uniformity of dosage. Dosage unit form, as used herein, refers to physically discrete units suited as unitary dosages for the patients/subjects to be treated; each unit containing a predetermined quantity of active compound calculated to produce the desired therapeutic effect in association with the required pharmaceutical carrier. The specification for the dosage unit forms of the invention are generally dictated by and directly dependent on (a) the unique characteristics of the therapeutic agent and the particular therapeutic or prophylactic effect to be achieved, and (b) the limitations inherent in the art of compounding such an active compound for the treatment of sensitivity in individuals.

[0238] Thus, the skilled artisan would appreciate, based upon the disclosure provided herein, that the dose and dosing regimen is adjusted in accordance with methods well-known in the therapeutic arts. That is, the maximum tolerable dose can be readily established, and the effective amount providing a detectable therapeutic benefit to a patient may also be determined, as can the temporal requirements for administering each agent to provide a detectable therapeutic benefit to the patient. Accordingly, while certain dose and administration regimens are exemplified herein, these examples in no way limit the dose and administration regimen that may be provided to a patient in practicing the present invention.

[0239] It is to be noted that dosage values may vary with the type and severity of the condition to be alleviated, and may include single or multiple doses. It is to be further understood that for any particular subject, specific dosage regimens should be adjusted over time according to the individual need and the professional judgment of the person administering or supervising the administration of

the compositions, and that dosage ranges set forth herein are exemplary only and are not intended to limit the scope or practice of the claimed composition. Further, the dosage regimen with the compositions of this invention may be based on a variety of factors, including the type of disease, the age, weight, sex, medical condition of the patient, the severity of the condition, the route of administration, and the particular antibody employed. Thus, the dosage regimen can vary widely, but can be determined routinely using standard methods. For example, doses may be adjusted based on pharmacokinetic or pharmacodynamic parameters, which may include clinical effects such as toxic effects and/or laboratory values. The present invention thus encompasses intra-patient dose-escalation as determined by the skilled artisan. Methods of determining appropriate dosages and regimens are well-known in the relevant art and would be understood to be encompassed by the skilled artisan once provided with the teachings disclosed herein.

[0240] In some embodiments, for administration to human subjects, the total monthly dose of the antibodies or antibody portion of the invention is in the range 0.5-1200 mg per patient, depending, of course, on the mode of administration. In certain embodiments, an intravenous monthly dose requires about 1-1000 mg/patient. The total monthly dose may be administered in single or divided doses and may, at the physician's discretion, fall outside of the typical range given herein.

[0241] In certain embodiments, a range for a therapeutically or prophylactically effective amount of an antibody or antibody portion of the invention is 1-1000 mg/kg/patient/month. In one embodiment, the antibody or portion thereof of the invention may be administered at about 1-200 or 1-150 mg/patient/month. In certain embodiments, the antibody or portion is administered in a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 10 mg/kg/patient shot 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 10 times a month. In a particular embodiment, the antibody or portion is administered in a 1 to 5 mg/kg/patient shot 1 or 2 times a month.

[0242] The antibodies and antigen-binding portions thereof of the present invention also are useful in a variety of processes with applications in research and diagnosis. In some embodiments, the antibodies and portions are used to detect, isolate, and/or purify human CCL20 or variants thereof (*e.g.*, by affinity purification or other suitable methods such as flow cytometry, *e.g.*, for cells, such as lymphocytes, in suspension), and to study human CCL20 structure (*e.g.*, conformation) and function. For *in vitro* applications, wherein immunogenicity of the antibody is not a concern, the mouse and chimeric antibodies and antigen-binding protions thereof of this invention will be useful in addition to humanized antibodies.

[0243] The antibodies or antigen-binding portions thereof of the present invention can be used in diagnostic applications (*e.g.*, *in vitro, ex vivo*). In some embodiments, the humanized antibodies or portions of the present invention are used to detect and/or measure the level of human CCL20 in a sample. In certain embodiments, the sample comprises, *e.g.*, cells or tissues expressing human CCL20, and/or

body fluids such as an inflammatory exudate, blood, serum, and/or bowel fluid bearing human CCL20. A sample can be obtained from an individual and an antibody or portion described herein can be used in a suitable immunological method to detect and/or measure human CCL20 expression, including methods such as flow cytometry (*e.g.*, for cells in suspension such as lymphocytes), enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA), including chemiluminescence assays, radioimmunoassay, and immunohistology.

[0244] In one embodiment, a method of detecting human CCL20 in a sample comprises contacting the sample with an antibody or portion of the present invention under conditions suitable for specific binding of the antibody or portion to human CCL20 and detecting antibody-CCL20 complexes which are formed. In one embodiment, the antibodies or portions described herein can be used to analyze normal versus inflamed tissues (*e.g.*, from a human) for human CCL20 reactivity and/or expression (*e.g.*, immunohistologically) to detect associations between increased expression of human CCL20 (*e.g.*, in affected tissues) and one or more disorders selected from, but not limited to, Grave's disease, vitiligo, hyperthyroidism, rheumatoid arthritis, psoriasis, atopic dermatitis, contact dermatitis, Crohn's disease, inflammatory bowel disease, B-cell malignancies, breast adenocarcinoma, chronic hepatitis, contact dermatitis, glioblastoma, hepatocellular carcinoma, human papillomavirus infection of the cervix, mycosis fungoides, pancreatic adenocarcinoma, periodontal disease, thyroid papillary carcinoma, pustulosis palmaris et plantaris, conditions associated with maculopapular exanthema, epidermolysis bullosa, alopecia areata, multiple sclerosis, polymyositis, dermatomyositis, Behcet's disease, acute generalized exanthematous pustulosis, vasculitides, juvenile idiopathic arthritis, sarcoidosis, bronchial asthma, allergic rhinitis, renal allograft rejection, graft-versus-host disease, liver allograft rejection, chronic obstructive pulmonary disease, cystic fibrosis, glomerulonephritis, respiratory syncytial virus infection, multiple myeloma, Langerhans cell histiocytosis, or other conditions. Thus, the antibodies of the present invention permit immunological methods of assessment of the presence of human CCL20 in normal and inflamed tissues, through which the presence of disease, disease progress and/or the efficacy of anti-human CCL20 therapy in the treatment of disease, *e.g.*, inflammatory and/or immune disease, can be assessed.

[0245] The methods and techniques of the present invention are generally performed according to conventional methods well known in the art and as described in various general and more specific references that are cited and discussed throughout the present specification unless otherwise indicated. See, *e.g.*, Sambrook J. & Russell D. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual,* 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2000); Ausubel *et al.*, *Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley, John & Sons, Inc. (2002); Harlow and Lane *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1998); and Coligan *et al.*, *Short Protocols in*

Protein Science, Wiley, John & Sons, Inc. (2003). Enzymatic reactions and purification techniques are performed according to manufacturer's specifications, as commonly accomplished in the art or as described herein. The nomenclature used in connection with, and the laboratory procedures and techniques of, analytical chemistry, synthetic organic chemistry, and medicinal and pharmaceutical chemistry described herein are those well known and commonly used in the art.

[0246] Unless otherwise defined, all technical and scientific terms used herein have the same meaning as commonly understood by one of ordinary skill in the art to which this invention belongs. Exemplary methods and materials are described below, although methods and materials similar or equivalent to those described herein can also be used in the practice or testing of the present invention. All publications and other references mentioned herein are incorporated by reference in their entirety. In case of conflict, the present specification, including definitions, will control. Although a number of documents are cited herein, this citation does not constitute an admission that any of these documents forms part of the common general knowledge in the art. Throughout this specification and claims, the word "comprise," or variations such as "comprises" or "comprising" will be understood to imply the inclusion of a stated integer or group of integers but not the exclusion of any other integer or group of integers. The materials, methods, and examples are illustrative only and not intended to be limiting.

[0247] In order that this invention may be better understood, the following examples are set forth. These examples are for purposes of illustration only and are not to be construed as limiting the scope of the invention in any manner.

Example 1: Involvement of CCL20 in autoimmune/inflammatory disorders

[0248] To obtain evidence for the involvement of CCL20 in autoimmune and inflammatory conditions, we studied the effects of knocking out the CCL20 receptor CCR6 in a type II collagen-induced arthritis (CIA) mouse rheumatoid arthritis (RA) model. CCR6 wild type mice, $CCR6^{+/-}$ (heterozygous) mice, and $CCR6^{-/-}$ (homozygous) knock-out mice (each n=10) were immunized at the base of the tail with bovine type II collagen (150 μg/mouse) emulsified in complete Freund's adjuvant (Chondrex, #7001). Three weeks later, a booster injection of the same amount of bovine type II collagen emulsion in incomplete adjuvant was administered at the base of the tail. We graded the severity of arthritic symptoms in the paws of each mouse as described in Griswold *et al.*, *Arthritis & Rheumatism* **31(11)**:1406-1412 (1988). Briefly, we graded the articular lesions of the extremities distal to the elbow or knee on a scale of 0 to 4 based on the number of joints involved and the degree of erythema and swelling. Arthritis scores were calculated as the sum of the scores of all four paws for each animal. CCR6 wild type animals developed arthritis, while $CCR6^{-/-}$ animals showed strong resistance to the disease (FIG. 1). Interestingly, $CCR6^{+/-}$ animals also exhibited some levels of

resistance, indicating that total abrogation of CCL20 function is not required to counteract the arthritic phenotype.

[0249] In addition, we immunohistochemically analyzed the hind paws of mice for the presence of CD3-positive T-cells or F4/80-positive macrophages. On day 43, mice were harvested and their hind paws were fixed in formalin. The paws were then sectioned and placed on slides. After decalcification of the paw samples, the slides were stained immunohistochemically with anti-CD3 (#N1580, DAKO) and F4/80 antibodies (Clone CI:A3-1, AbD Serotec). The intensity of staining was scored by two independent observers by scanning the samples with an Aperio instrument (Aperio Technologies). The scoring scale was as follows: 0, normal; 1, light staining throughout the paw or intense staining in one digit; 2, moderate staining in multiple digits; 3, intense staining in multiple digits or moderate throughout; 4, intense staining throughout all digits and paw. The number of T-cells (FIG. 2) and macrophages (FIG. 3) infiltrating the CIA-induced lesions were strongly reduced in both $CCR6^{+/-}$ and $CCR6^{-/-}$ mice.

[0250] We also studied the effects of knocking out CCR6 in a dinitrofluorobenzene (DNFB)-induced allergic contact dermatitis mouse model. Two groups of six mice each (one group of mice wild-type for CCR6 and one group CCR6 deficient) were sensitized by brushing 25 µl of 0.4% DNFB solution (in 4:1 acetone:olive oil) on the shaved abdomen for two successive days (days 0 and 1). On day 5, mice were re-challenged by applying 20 µl of 0.1 % DNFB (in 4:1 acetone:olive oil) to one side of one ear. As an indicator of edema, ear thickness was measured before DNFB challenge and at 24 hr after the last challenge on Day 5 by using a thickness gauge. CCR6 deficient mice demonstrated almost no increased ear thickness after treatment with DNFB, indicating resistance against DNFB-induced contact hypersensitivity (FIG. 4).

[0251] These data support a role for CCR6 and CCL20 in autoimmune/inflammatory disorders.

Example 2: Inhibition of CCL20-induced chemotaxis by hamster anti-mouse CCL20 2F5-5 MAb

[0252] To further explore the role of CCL20 as a potential therapeutic target, we performed experiments using a hamster anti-mouse CCL20 antibody (2F5-5). We first characterized the ability of the 2F5-5 MAb to bind to mouse, human, and rhesus CCL20. Soluble CCL20-secreted alkaline phosphatase (SEAP) antigens of each species were prepared as follows. The cDNAs encoding the CCL20s of human, cynomolgus monkey, rhesus monkey, rat, and mouse were amplified and subcloned into a pcDNA3.1 (+) dSalI SEAP vector, which contains SEAP cDNA and has its SalI site deleted (pcDNA 3.1 (+) purchased from Invitrogen; SEAP cDNA derived from a pSEAP-Enhancer vector, Clontech). The expression vectors were transfected into the human embryo kidney cell line HEK293EBNA (HEK293E, Invitrogen). The HEK293E cells were inoculated with DMEM

(Invitrogen) supplemented with 10% fetal bovine serum on the day before transfection. On the day of transfection, the culture medium was replaced with OPTI-MEM II serum free media (Invitrogen). The expression vectors were transfected using TransIT LT1 (TAKARA Bio Inc., Shiga, Japan) according to the manufacturer's protocol. After 3 days of incubation at 5% CO_2 and 37°C, culture supernatants were harvested. The concentration of CCL20-SEAP in each culture was measured by using the Great EscAPe SEAP Chemiluminescence Kit 2.0 (Clontech).

[0253] We then performed surface plasmon resonance (Biacore™) binding studies to measure the binding of the 2F5-5 MAb to mouse, human, rhesus, and cynomolgus CCL20-SEAP antigens. Anti-SEAP (monoclonal anti-mouse placental alkaline phosphatase, Thermo Scientific, Cat # MAI-19354, Lot # KL12748M) was immobilized on a CM5 sensor chip (GE Healthcare) using a standard NHS/EDC amine coupling procedure. SEAP-tagged mouse CCL20 (100 nM in supernatant, ID735, Lot # 091130) was diluted to 5 nM with TBS-P containing 0.005 % Tween-20 and captured on the CM5 sensor chip. 0.2 nM to 80 nM dilutions of hamster anti-mouse CCL20 (2F5-5, Lot # 060215, 2 mg/ml) in TBS-P were injected over the sensor chip at a flow rate of 30 µl/min. Association and dissociation of hamster anti-mouse CCL20 with mouse CCL20 were monitored for 4 min and 16 min, respectively. The chip surface was regenerated between injections using 10 mM glycine, pH 2.25. Sensograms were double referenced by subtracting hamster anti-mouse CCL20 injections into a reference cell without captured mouse CCL20 and a TBS-P injection over captured mouse CCL20. The sensograms were analyzed using a 1:1 Langmuir binding model in BIAevaluation software (GE Healthcare, version 3.2). In this assay, 2F5-5 MAb binds to mouse CCL20 with an affinity of 32 pM, but does not bind to human, rhesus, or cynomolgus CCL20 (Table 1).

Table 1: 2F5-5 MAb binding affinity to CCL20 orthologs

CCL20 Ortholog	k_a ($x10^5$ $M^{-1}sec^{-1}$)	k_d ($x10^{-5}$ sec^{-1})	K_D ($x10^{-11}$ M)
Mouse	9.63	0.474	0.492
Human	Not detectable	Not detectable	Not detectable
Rhesus	Not detectable	Not detectable	Not detectable
Cynomolgus	Not detectable	Not detectable	Not detectable

[0254] To test the effect of 2F5-5 MAb on CCL20 function, we evaluated its neutralizing activity against mouse CCL20 using an *in vitro* chemotaxis assay. CCR6-transduced B300.19 cells and recombinant mouse CCL20 (1 nM) were added to transwell culture plates. Four hours later, the cells that migrated into the lower chamber were counted by fluorescence-activated cell sorting (FACS).

2F5-5 MAb completely inhibited chemotaxis at 1 μg/ml with an estimated IC_{50} value of 0.04 μg/ml (0.27 nM) (FIG. 5). By contrast, a control hamster antibody (10 μg/ml) did not inhibit chemotaxis (100% control; data not shown).

Example 3: Humanization of mouse anti-CCL20 MAbs

[0255] To obtain monoclonal antibodies against human CCL20, we generated a panel of mouse anti-human CCL20 antibodies. Recombinant human CCL20 (R&D, #360-MP-025/CF, 17.5 μg/head) emulsified with Freund's complete adjuvant (Mitsubishi-Kagaku Yatron, RM606-1) was injected subcutaneously into the footpads of the mice. Two consecutive injections were then administered every three days. Three days after the final immunization, the animals were sacrificed and the inguinal lymph-node cells were fused with P3U1 myeloma cells at a 2:1 to 10:1 ratio in the presence of 50% polyethylene glycol. The cells were then cultured in 96-well plastic plates.

[0256] Sandwich ELISA was used for primary screening. A 96-well plate was coated with a polyclonal anti-human IgG antibody (Jackson, #709-005-149, 2 μg/ml in PBS (-)). After overnight incubation at 4°C, the wells were blocked with 1 x Block-Ace (Dainippon Sumitomo Pharma, UK-B80) for 1 hour at room temperature. The wells were then washed with 0.02% Tween 20/PBS (-), after which 1 nM human CCL20-hIgG Fc chimera protein in 0.02% Tween 20/PBS (-) was added to the wells (50 μl/well). After a one hour incubation at room temperature, three additional washes were performed as described above. Culture supernatants from each hybridoma were then diluted twofold with 20% FBS and 200 μg/ml human IgG (Mitsubishi Welpharma) in 0.02% Tween 20/PBS (-), added to the wells, and incubated for one hour at room temperature. After three further washes, the wells were incubated with horseradish peroxidase-conjugated anti-mouse IgG antibody (Jackson, #715-035-150, 5000 fold dilution with 0.02% Tween 20/PBS (-)) for one hour at room temperature. The wells were then washed three times and incubated in a TMBZ (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) solution for 15-30 minutes. An equal volume of 2 M H_2SO_4 was then added to stop the reaction, and the optical density was read at 450 nm by ARVO (PerkinElmer). The sandwich ELISA identified 24 positive wells.

[0257] We then performed a chemotaxis assay as a secondary screen. The chemotaxis assay was performed in transwell culture plates (MultiScreen pore 5 μm, Millipore, #MAMIC 5S10). First, 50 μl/well of 300 ng/ml recombinant human CCL20 (R&D, #360-MP-025/CF) in chemotaxis buffer (0.5% BSA, 0.5% FBS, 20 mM HEPES (pH 7.4), 50 μM 2-mercaptoethanol in RPMI1640 (Invitrogen)) was pre-incubated with 100 μl/well of culture supernatants from the hybridomas at room temperature for 30 minutes (for a final CCL20 concentration of 100 ng/ml) in the lower wells of the plates. After 30 minutes, B300.19 cells transfected with human CCR6 (SEQ ID NO: 104) ($2x10^5$ cells/75 μl) were applied to the upper wells and incubated in a 5% CO_2 incubator at 37°C for 4 hours.

Following the incubation, 150 µl from the lower wells were harvested and fixed with 50 µl of 4% PFA/PBS (-). 30 µl of each sample were applied to the FACSCantoII cell analyzer (BD Biosciences) to count migrated cells. Neutralizing activity was found in four wells.

[0258] We then used standard limiting dilution to obtain hybridoma clones from the four positive wells. We confirmed the neutralizing activity of supernatant from each clone using the *in vitro* chemotaxis assay. Three of the mouse anti-human CCL20 monoclonal antibodies produced by these clones (antibodies 36F7C10 (Table 2), 42G5B10 (Table 3), and 40-1C10B9 (Table 4)) demonstrated neutralizing activity against human CCL20.

Table 2: Amino acid and nucleotide sequences of 36F7C10

DESCRIPTION	SEQUENCE
Heavy Chain Signal Sequence (Amino Acid) (SEQ ID NO: 33)	MRWSCIILFLVATATGVNS
Light Chain Signal Sequence (Amino Acid) (SEQ ID NO: 34)	MGVPTQLLLLWLTVVVVRC
Heavy Chain Variable Domain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 39)	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYT FTNYWMHWVKQRPGQGLEWIGVIDPSDS YTTYNQKFKGKATLTVDTSSSTAYMQLS SLTSEDSAVYYCTRGNYGVDYAMDYWG QGTSVTVSS
Light Chain Variable Domain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 40)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCGASENIY GALNWYQRKQGKSPQLLIYGATNLADG MSSRFSGSGSGRQYSLKISSLHPDDVATY YCQNVLITPYTFGGGTKLEIK
Heavy Chain Signal Sequence (Nucleotide) (SEQ ID NO: 45)	ATGAGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCT TGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCAACT CC
Light Chain Signal Sequence (Nucleotide) (SEQ ID NO: 46)	ATGGGTGTACCCACTCAGCTCCTGTTGC TGTGGCTTACAGTCGTAGTTGTCAGATG T
Heavy Chain Variable Domain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 51)	CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCT GAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTG AAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACA CCTTCACCAACTACTGGATGCACTGGGT GAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGA GTGGATCGGAGTGATTGATCCTTCTGAT AGTTATACTACCTACAATCAAAAGTTCA AGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACA CATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCT CAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGC GGTCTATTACTGTACAAGAGGTAACTAC GGAGTAGACTATGCTATGGACTACTGG GGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCT CG
Light Chain Variable Domain Nucleotide Sequence	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCTT CACTGTCTGCATCTGTGGGAGAAACTGT

(SEQ ID NO: 52)	CACCATCACATGTGGAGCAAGTGAGAA TATTTACGGTGCTTTAAATTGGTATCAG CGGAAACAGGGAAAATCTCCTCAGCTC CTGATCTATGGTGCAACCAACTTGGCAG ATGGCATGTCATCGAGGTTCAGTGGCA GTGGATCTGGTAGACAGTATTCTCTCAA GATCAGTAGCCTGCATCCTGACGATGTT GCAACGTATTACTGTCAAAATGTGTTAA TTACTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGA CCAAGCTGGAAATAAAA

Table 3: Amino acid and nucleotide sequences of 42G5B10

DESCRIPTION	SEQUENCE
Heavy Chain Signal Sequence (Amino Acid) (SEQ ID NO: 37)	MRWSCIILFLVATATGVNS
Light Chain Signal Sequence (Amino Acid) (SEQ ID NO: 38)	MGVPTQLLLLWLTVVVVRC
Heavy Chain Variable Domain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 43)	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYT FTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGLIDPSDK YTNYNQKFKGKATLTVDTSSSTAYMQLS SLTSEDSAVYYCTRGNYGVDYGMDYWG QGTSVTVSS
Light Chain Variable Domain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 44)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCGASENIY GALNWYQRKQGKSPQLLIYGATNLADG MSSRFSGSGSGRQYSLKISSLHPDDVATY YCQNVLSTPYTFGGGTKLEIK
Heavy Chain Signal Sequence (Nucleotide) (SEQ ID NO: 49)	ATGAGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCT TGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCAACT CC
Light Chain Signal Sequence (Nucleotide) (SEQ ID NO: 50)	ATGGGTGTACCCACTCAGCTCCTGTTGC TGTGGCTTACAGTCGTAGTTGTCAGATG T
Heavy Chain Variable Domain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 55)	CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCT GAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTG AAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACA CCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGT GAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGA GTGGATCGGACTGATTGATCCTTCTGAT AAGTATACTAACTACAATCAAAAGTTC AAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGAC ACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGC TCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGC GGTCTATTACTGTACAAGAGGTAACTAC GGAGTAGACTATGGTATGGACTACTGG GGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCT CA
Light Chain Variable Domain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 56)	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCTT CACTGTCTGCATCTGTGGGAGAAACTGT CACCATCACATGTGGAGCAAGTGAGAA TATTTACGGTGCTTTAAATTGGTATCAG

	CGGAAACAGGGAAAATCTCCTCAGCTC CTGATCTATGGTGCAACCAACTTGGCAG ATGGCATGTCATCGAGGTTCAGTGGCA GTGGATCTGGTAGACAGTATTCTCTCAA GATCAGTAGCCTGCATCCTGACGATGTT GCAACGTATTACTGTCAAAATGTGTTAA GTACTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGA CCAAGCTGGAAATAAAA

Table 4: Amino acid and nucleotide sequences of 40-1C10B9

DESCRIPTION	SEQUENCE
Heavy Chain Signal Sequence (Amino Acid) (SEQ ID NO: 35)	MEWSWVFLFLLSVIAGVQS
Light Chain Signal Sequence (Amino Acid) (SEQ ID NO: 36)	MGVPTQLLLLWLTVVVVRC
Heavy Chain Variable Domain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 41)	QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYT FTDYEMHWVKQTPVHGLEWIGAIDPETT STAYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMELR SLTSEDSAVYYCTKCYYGSADYAMDYW GQGTSVTVSS
Light Chain Variable Domain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 42)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCGASENIY GALNWYQRKQGKSPQLLIYGATNLADG MSSRFSGSGSGRQYSLKISSLHPDDVATY YCQNVLSTPWTFGGGTKLEIK
Heavy Chain Signal Sequence (Nucleotide) (SEQ ID NO: 47)	ATGGAATGGAGCTGGGTCTTTCTCTTCC TCCTGTCAGTAATTGCAGGTGTCCAATC C
Light Chain Signal Sequence (Nucleotide) (SEQ ID NO: 48)	ATGGGTGTACCCACTCAGCTCCTGTTGC TGTGGCTTACAGTCGTAGTTGTCAGATG T
Heavy Chain Variable Domain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 53)	CAGGTTCAACTGCAGCAGTCTGGGGCT GAGCTGGTGAGGCCTGGGGCTTCAGTG ACGCTGTCCTGCAAGGCTTCGGGCTACA CATTTACTGACTATGAAATGCACTGGGT GAAGCAGACACCTGTGCATGGCCTGGA ATGGATTGGAGCTATTGATCCTGAAACT ACTAGTACTGCCTACAATCAGAAGTTCA AGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACA AATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCT CCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCC GTCTATTACTGTACCAAATGTTACTACG GTAGCGCGGACTATGCTATGGACTACTG GGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCC TCA
Light Chain Variable Domain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 54)	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCTT CACTGTCTGCATCTGTGGGAGAAACTGT CACCATCACATGTGGAGCAAGTGAGAA TATTTACGGTGCTTTAAATTGGTATCAG CGGAAACAGGGAAAATCTCCTCAGCTC CTGATCTATGGTGCAACCAACTTGGCAG ATGGCATGTCATCGAGGTTCAGTGGCA

	GTGGATCTGGTAGACAGTATTCTCTCAA GATCAGTAGCCTGCATCCTGACGATGTT GCAACGTATTACTGTCAAAATGTGTTAA GTACTCCGTGGACGTTCGGTGGAGGCA CCAAGCTGGAAATCAAA

[0259] The 36F7C10, 42G5B10, and 40-1C10B9 mouse antibodies were then used to produce humanized antibody heavy and light chains. The humanization method involved grafting mouse complementarity determining regions (CDRs), as identified by Kabat and/or Chothia definition methods according to Kabat numbering, into the human heavy and light chain germline sequences representing the best framework matches with the original mouse sequences from which the CDRs were derived (FIGS. 6A-C; bolding denotes residues that differ between the mouse antibody and the human germline sequence; underlining and bolding denotes grafted mouse CDRs; italicizing and bolding denotes framework residues substituted with corresponding mouse antibody residues; and underlining, italicizing and bolding denotes CDR residues substituted with corresponding human germline residues). Framework matches were identified using the IgBlast database, according to the methods described in Altschul et al., Nucl. Acids Res. **25**:3389-3402 (1997). To derive alternative humanized chain versions, we used two methods: 1) 3D modeling techniques to predict critical murine residues within the framework interacting with the CDR residues, and 2) sequence alignments to identify murine residues immediately adjacent to the canonical CDR sequences.

[0260] The humanized sequences were constructed into expression vectors and transfected into mammalian cell lines (*e.g.*, HEK293E cells (Invitrogen)) for antibody production. Antibodies obtained by this process were then characterized in functional and physiochemical assays.

Example 4: *In vitro* chemotaxis assays demonstrating neutralization activity of humanized anti-human CCL20 Abs

[0261] We identified humanized antibodies that actively neutralize the human CCL20 ligand by performing *in vitro* chemotaxis assays using CCR6-transduced B300.19 cells. Upon determination of IC_{50}, IC_{90}, and IC_{95} values (FIGS. 7A-C), antibodies demonstrating a reduced value in the IC_{95} table were deemed to possess significant neutralizing activity (FIG. 7C). Of the 14 humanized heavy chains and 26 humanized light chains produced, we tested 41 combinations. Eight of these combinations were shown to significantly neutralize chemotaxis. These eight humanized antibodies are listed below:

- 36LK3/36HKK3
- 36LK3/42HKK1
- 36LK3/42HKK2

- 36LK3/42HKK3
- 36LK3/36HC2
- 36LK3/36HC3
- 36LC3/36HKK3
- 36LC3/36HC2

[0262] The amino acid and nucleotide sequences of humanized heavy chains HC2, HC3, 36HKK3, 42HKK1, 42HKK2, and 42HKK3, and of humanized light chains LC3 and LK3, are shown in Tables 5-12. The amino acid sequences encoded by the human germline genes utilized by these heavy and light chains are shown in Table 13.

Table 5: Amino acid and nucleotide sequences of humanized anti-human CCL20 antibody heavy chain 36HC2 ("HC2")

DESCRIPTION	SEQUENCE (signal sequence underlined, variable domain in bold)
Heavy Chain Amino Acid Sequence with the signal sequence (SEQ ID NO: 1)	MGWSCIILFLVATATGVHS**QVQLVQSGA EVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMH WVRQAPGQGLEWMGVIDPSDSYTTYA QKFQGRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCARGNYGVDYAMDYWGQG TLVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Heavy Chain Amino Acid Sequence without the signal sequence (SEQ ID NO: 108)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGVI DPSDSYTTYAQKFQGRVTMTVDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCARGNYGVDY AMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT

	KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
Heavy Chain Variable Domain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 9)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGVI DPSDSYTTYAQKFQGRVTMTVDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCARGNYGVDY AMDYWGQGTLVTVSS**
Heavy Chain Nucleotide Sequence with the signal sequence (SEQ ID NO: 17)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATTCTGTTCC TGGTGGCCACTGCTACCGGAGTGCACA GC**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGG GCTGAGGTGAAGAAACCCGGTGCAA GTGTGAAGGTGTCATGTAAAGCATCC GGCTATACATTCACTAACTACTGGAT GCATTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGA CAGGGACTGGAATGGATGGGCGTGA TCGACCCTTCAGATTCCTACACCACA TATGCCCAGAAGTTTCAGGGCAGGGT GACCATGACAGTGGACACTAGCACCT CTACAGTGTACATGGAGCTGTCCAGC CTGAGAAGTGAAGATACAGCAGTGTA CTATTGCGCCCGCGGCAATTACGGAG TGGACTATGCCATGGATTACTGGGGG CAGGGTACTCTGGTGACCGTGTCTAG** TGCTTCTACCAAGGGCCCATCGGTCTTC CCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCT CTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCC TGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT GACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCT GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG CAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAA TCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCAC CGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGG GACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAA ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGT ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACC ACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGG GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGC CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC

	CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACA AGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA CGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTC ACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGGAA ATGA
Heavy Chain Nucleotide Sequence without the signal sequence (SEQ ID NO: 109)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGG** **CTGAGGTGAAGAAACCCGGTGCAAGT** **GTGAAGGTGTCATGTAAAGCATCCGG** **CTATACATTCACTAACTACTGGATGC** **ATTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGACA** **GGGACTGGAATGGATGGGCGTGATC** **GACCCTTCAGATTCCTACACCACATA** **TGCCCAGAAGTTTCAGGGCAGGGTGA** **CCATGACAGTGGACACTAGCACCTCT** **ACAGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCT** **GAGAAGTGAAGATACAGCAGTGTACT** **ATTGCGCCCGCGGCAATTACGGAGTG** **GACTATGCCATGGATTACTGGGGGCA** **GGGTACTCTGGTGACCGTGTCTAGT**G CTTCTACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCC CCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCT GGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTG ACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTG ACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCT CAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG CAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAA TCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCAC CGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGG GACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAA ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGT ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACC ACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGG GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGC CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACA

	AGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA CGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTC ACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGGAA ATGA
Heavy Chain Variable Domain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 25)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGG CTGAGGTGAAGAAACCCGGTGCAAGT GTGAAGGTGTCATGTAAAGCATCCGG CTATACATTCACTAACTACTGGATGC ATTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGACA GGGACTGGAATGGATGGGCGTGATC GACCCTTCAGATTCCTACACCACATA TGCCCAGAAGTTTCAGGGCAGGGTGA CCATGACAGTGGACACTAGCACCTCT ACAGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCT GAGAAGTGAAGATACAGCAGTGTACT ATTGCGCCCGCGGCAATTACGGAGTG GACTATGCCATGGATTACTGGGGGCA GGGTACTCTGGTGACCGTGTCTAGT**

Table 6: Amino acid and nucleotide sequences of humanized anti-human CCL20 antibody heavy chain 36HC3 ("HC3")

DESCRIPTION	SEQUENCE (signal sequence underlined, variable domain in bold)
Heavy Chain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 2)	MGWSCIILFLVATATGVHS**QVQLVQSGA EVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMH WVKQAPGQGLEWIGVIDPSDSYTTYNQ KFKGKATMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCTRGNYGVDYAMDYWGQGT SVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Heavy Chain Variable Domain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 10)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFTNYWMHWVKQAPGQGLEWIGVID PSDSYTTYNQKFKGKATMTRDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCTRGNYGVDYA MDYWGQGTSVTVSS**
Heavy Chain Nucleotide Sequence	ATGGGCTGGTCCTGCATCATTCTGTTCC TGGTGGCAACTGCCACCGGAGTGCACA

(SEQ ID NO: 18)	GC**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGG** **GCTGAGGTGAAGAAACCCGGTGCAA** **GTGTGAAAGTGTCATGCAAGGCATCC** **GGCTATACATTCACTAACTACTGGAT** **GCATTGGGTGAAGCAGGCACCAGGA** **CAGGGACTGGAATGGATCGGCGTGAT** **CGACCCTTCAGATTCCTACACCACAT** **ATAATCAGAAGTTTAAAGGCAAGGCT** **ACCATGACAAGGGACACTAGCACCTC** **TACAGTGTACATGGAGCTGTCCAGCC** **TGAGGTCCGAAGATACAGCCGTGTAC** **TATTGCACTCGGGGCAACTACGGAGT** **GGACTATGCTATGGATTACTGGGGGC** **AGGGTACTAGTGTGACCGTGTCTAGT** GCATCTACCAAGGGCCCATCGGTCTTCC CCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTC TGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT GACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCT GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG CAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAA TCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCAC CGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGG GACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAA ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGT ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACC ACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGG GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGC CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACA AGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA CGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTC ACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGGAA ATGA
Heavy Chain Variable Domain Nucleotide Sequence	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGG** **CTGAGGTGAAGAAACCCGGTGCAAGT**

(SEQ ID NO: 26)	**GTGAAAGTGTCATGCAAGGCATCCGG CTATACATTCACTAACTACTGGATGC ATTGGGTGAAGCAGGCACCAGGACA GGGACTGGAATGGATCGGCGTGATC GACCCTTCAGATTCCTACACCACATA TAATCAGAAGTTTAAAGGCAAGGCTA CCATGACAAGGGACACTAGCACCTCT ACAGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCT GAGGTCCGAAGATACAGCCGTGTACT ATTGCACTCGGGGCAACTACGGAGTG GACTATGCTATGGATTACTGGGGGCA GGGTACTAGTGTGACCGTGTCTAGT**

Table 7: Amino acid and nucleotide sequences of humanized anti-human CCL20 antibody heavy chain 36HKK3

DESCRIPTION	SEQUENCE (signal sequence underlined, variable domain in bold)
Heavy Chain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 3)	MDWTWRILFLVAAATGAHS**QVQLVQSG AEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWM HWVRQAPGQGLEWMGVIDPSDSYTTY NQKFKGKATLTVDTSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCTRGNYGVDYAMDYWGQ GTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Heavy Chain Variable Domain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 11)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGVI DPSDSYTTYNQKFKGKATLTVDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCTRGNYGVDY AMDYWGQGTLVTVSS**
Heavy Chain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 19)	ATGGACTGGACATGGAGAATCCTGTTCC TGGTGGCCGCTGCAACCGGAGCACACA GC**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGA GCAGAGGTGAAGAAACCCGGTGCTA GTGTGAAAGTGTCATGCAAGGCCTCC GGGTATACTTTCACCAACTACTGGAT GCATTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGA CAGGGACTGGAATGGATGGGCGTGA TTGACCCTTCAGATTCCTACACCACA TATAATCAGAAGTTTAAAGGAAAGGC AACACTGACTGTGGACACCAGCACAT**

	CTACTGCCTACATGGAGCTGTCCAGC **CTGAGGTCCGAAGATACTGCCGTGTA** **CTATTGTACCCGGGGCAACTACGGAG** **TGGACTATGCAATGGATTACTGGGGG** **CAGGGTACCCTGGTGACAGTGTCTAG** TGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTC CCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCT CTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCC TGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT GACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCT GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG CAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAA TCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCAC CGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGG GACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAA ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGT ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACC ACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGG GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGC CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACA AGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA CGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTC ACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAA ATGA
Heavy Chain Variable Domain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 27)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGC** **AGAGGTGAAGAAACCCGGTGCTAGTG** **TGAAAGTGTCATGCAAGGCCTCCGGG** **TATACTTTCACCAACTACTGGATGCA** **TTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGACAG** **GGACTGGAATGGATGGGCGTGATTGA** **CCCTTCAGATTCCTACACCACATATA** **ATCAGAAGTTTAAAGGAAAGGCAACA** **CTGACTGTGGACACCAGCACATCTAC** **TGCCTACATGGAGCTGTCCAGCCTGA** **GGTCCGAAGATACTGCCGTGTACTAT**

	TGTACCCGGGGCAACTACGGAGTGGA CTATGCAATGGATTACTGGGGGCAGG GTACCCTGGTGACAGTGTCTAGT

Table 8: Amino acid and nucleotide sequences of humanized anti-human CCL20 antibody heavy chain 42HKK1

DESCRIPTION	SEQUENCE (signal sequence underlined, variable domain in bold)
Heavy Chain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 4)	MDWTWRILFLVAAATGAHS**QVQLVQSG AEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWM HWVRQAPGQGLEWMGLIDPSDKYTNY NQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCARGNYGVDYGMDYWGQ GTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Heavy Chain Variable Domain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 12)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGLI DPSDKYTNYNQKFKGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCARGNYGVDY GMDYWGQGTLVTVSS**
Heavy Chain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 20)	ATGGACTGGACCTGGCGAATCCTGTTCC TGGTGGCCGCTGCAACAGGAGCACACT CA**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGG GCAGAGGTGAAGAAACCCGGTGCCA GCGTGAAGGTGTCTTGCAAAGCTAGT GGCTATACCTTCACAAGCTACTGGAT GCATTGGGTGCGGCAGGCACCAGGA CAGGGACTGGAATGGATGGGCCTGAT TGACCCTTCTGATAAGTACACTAACT ACAACCAGAAGTTTAAAGGAAGGGTG ACTATGACCCGGGACACATCAACTTC CACCGTGTACATGGAGCTGTCCAGCC TGAGATCCGAAGATACCGCCGTGTAC TATTGTGCTCGCGGCAACTACGGAGT GGACTATGGCATGGATTACTGGGGGC AGGGTACACTGGTGACCGTGTCCAGT** GCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCC CCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTC TGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT

	GACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCT GACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG CAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAA TCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCAC CGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGG GACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAA ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGT ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACC ACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGG GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGC CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACA AGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA CGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTC ACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAA ATGA
Heavy Chain Variable Domain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 28)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGGG CAGAGGTGAAGAAACCCGGTGCCAG CGTGAAGGTGTCTTGCAAAGCTAGTG GCTATACCTTCACAAGCTACTGGATG CATTGGGTGCGGCAGGCACCAGGAC AGGGACTGGAATGGATGGGCCTGATT GACCCTTCTGATAAGTACACTAACTA CAACCAGAAGTTTAAAGGAAGGGTGA CTATGACCCGGGACACATCAACTTCC ACCGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCT GAGATCCGAAGATACCGCCGTGTACT ATTGTGCTCGCGGCAACTACGGAGTG GACTATGGCATGGATTACTGGGGGCA GGGTACACTGGTGACCGTGTCCAGT**

Table 9: Amino acid and nucleotide sequences of humanized anti-human CCL20 antibody heavy chain 42HKK2

DESCRIPTION	SEQUENCE

	(signal sequence underlined, variable domain in bold)
Heavy Chain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 5)	MDWTWRILFLVAAATGAHS**QVQLVQSG AEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWM HWVRQAPGQGLEWMGLIDPSDKYTNY NQKFKGRVTLTVDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCTRGNYGVDYGMDYWGQ GTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Heavy Chain Variable Domain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 13)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGLI DPSDKYTNYNQKFKGRVTLTVDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCTRGNYGVDY GMDYWGQGTLVTVSS**
Heavy Chain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 21)	ATGGACTGGACTTGGAGGATCCTGTTCC TGGTGGCCGCTGCAACCGGAGCTCACTC A**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGA GCAGAGGTGAAGAAACCCGGTGCCTC CGTGAAGGTGTCTTGCAAAGCAAGTG GCTATACCTTCACAAGCTACTGGATG CATTGGGTGAGACAGGCACCAGGACA GGGACTGGAATGGATGGGCCTGATTG ACCCTTCTGATAAGTACACCAACTAC AACCAGAAGTTTAAAGGACGCGTGAC TCTGACCGTGGACACATCAACTTCCA CCGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTG AGGTCCGAAGATACCGCAGTGTACTA TTGTACACGGGGCAACTACGGAGTGG ACTATGGCATGGATTACTGGGGGCAG GGTACACTGGTGACCGTGTCCAGT**GC TAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC CTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGG TCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC GGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTC CTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCA GCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCA GCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAA CGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATC TTGTGACAAAACTCACACATGCCCACCG TGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGA

	CCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAAC CCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGA CGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAA GTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGA GGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCG GGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC CCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA CAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGG AGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCC TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG CAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAA GACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGAC GGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCA CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCA GAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA TGA
Heavy Chain Variable Domain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 29)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAG CAGAGGTGAAGAAACCCGGTGCCTCC GTGAAGGTGTCTTGCAAAGCAAGTGG CTATACCTTCACAAGCTACTGGATGC ATTGGGTGAGACAGGCACCAGGACA GGGACTGGAATGGATGGGCCTGATTG ACCCTTCTGATAAGTACACCAACTAC AACCAGAAGTTTAAAGGACGCGTGAC TCTGACCGTGGACACATCAACTTCCA CCGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTG AGGTCCGAAGATACCGCAGTGTACTA TTGTACACGGGGCAACTACGGAGTGG ACTATGGCATGGATTACTGGGGGCAG GGTACACTGGTGACCGTGTCCAGT**

Table 10: Amino acid and nucleotide sequences of humanized anti-human CCL20 antibody heavy chain 42HKK3

DESCRIPTION	SEQUENCE (signal sequence underlined, variable domain in bold)
Heavy Chain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 6)	MDWTWRILFLVAAATGAHS**QVQLVQSG AEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWM HWVRQAPGQGLEWMGLIDPSDKYTNY NQKFKGKATLTVDTSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCTRGNYGVDYGMDYWGQ GTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV

	HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Heavy Chain Variable Domain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 14)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGLI DPSDKYTNYNQKFKGKATLTVDTSTST AYMELSSLRSEDTAVYYCTRGNYGVDY GMDYWGQGTLVTVSS**
Heavy Chain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 22)	ATGGACTGGACTTGGAGAATCCTGTTCC TGGTGGCCGCTGCAACCGGAGCTCACTC **ACAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGA GCAGAGGTGAAGAAACCCGGTGCCTC CGTGAAAGTGTCTTGCAAGGCTAGTG GCTATACCTTCACAAGCTACTGGATG CATTGGGTGAGGCAGGCACCAGGAC AGGGACTGGAATGGATGGGCCTGATT GACCCTTCTGATAAGTACACCAACTA CAACCAGAAGTTTAAAGGAAAGGCAA CTCTGACCGTGGACACATCAACTTCC ACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGCCT GAGGTCCGAAGATACCGCCGTGTACT ATTGTACACGGGGCAACTACGGAGTG GACTATGGCATGGATTACTGGGGGCA GGGTACACTGGTGACCGTGTCCAGT**G CTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCC CCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCT GGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTG ACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTG ACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCT CAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG CAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAA TCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCAC CGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGG GACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAA ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTG GACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTC AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGT

	ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCC TCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACC ACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGG GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGC CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACA AGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA CGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTC ACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAA ATGA
Heavy Chain Variable Domain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 30)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAG CAGAGGTGAAGAAACCCGGTGCCTCC GTGAAAGTGTCTTGCAAGGCTAGTGG CTATACCTTCACAAGCTACTGGATGC ATTGGGTGAGGCAGGCACCAGGACA GGGACTGGAATGGATGGGCCTGATTG ACCCTTCTGATAAGTACACCAACTAC AACCAGAAGTTTAAAGGAAAGGCAAC TCTGACCGTGGACACATCAACTTCCA CCGCCTACATGGAGCTGTCCAGCCTG AGGTCCGAAGATACCGCCGTGTACTA TTGTACACGGGGCAACTACGGAGTGG ACTATGGCATGGATTACTGGGGGCAG GGTACACTGGTGACCGTGTCCAGT**

Table 11: Amino acid and nucleotide sequences of humanized anti-human CCL20 antibody light chain LC3

DESCRIPTION	SEQUENCE (signal sequence underlined, variable domain in bold)
Light Chain Amino Acid Sequence with the signal sequence (SEQ ID NO: 7)	MGWSCIILFLVATATGVHS**DIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASENIYGALNWYQ QKPGKAPKLLIYGATNLADGVPSRFSG SGSGRQYSLTISSLQPEDFATYYCQNVL ITPYTFGGGTKLEIK**RTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
Light Chain Amino Acid Sequence without the signal sequence (SEQ ID NO: 110)	**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENI YGALNWYQQKPGKAPKLLIYGATNLA DGVPSRFSGSGSGRQYSLTISSLQPEDFA TYYCQNVLITPYTFGGGTKLEIK**RTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH

	QGLSSPVTKSFNRGEC
Light Chain Variable Domain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 15)	**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENI YGALNWYQQKPGKAPKLLIYGATNLA DGVPSRFSGSGSGRQYSLTISSLQPEDFA TYYCQNVLITPYTFGGGTKLEIK**
Light Chain Nucleotide Sequence with the signal sequence (SEQ ID NO: 23)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATTCTGTTCC TGGTGGCAACCGCCACAGGAGTGCACA GC**GACATCCAGATGACCCAGTCTCCA TCCAGCCTGAGTGCCTCAGTGGGCGA TAGGGTGACTATCACCTGTCGGGCCA GCGAGAACATCTACGGCGCTCTGAAT TGGTATCAGCAGAAGCCAGGAAAAGC TCCCAAGCTGCTGATCTACGGGGCTA CAAACCTGGCAGACGGTGTGCCCAGT CGATTCTCCGGTAGCGGCTCTGGACG ACAGTATTCACTGACTATCTCTAGTCT GCAGCCTGAAGATTTCGCCACTTACT ATTGCCAGAATGTGCTGATTACTCCA TATACCTTTGGCGGAGGGACAAAACT GGAGATCAAG**AGAACTGTGGCCGCTCC CAGTGTGTTCATTTTTCCCCCTTCAGAC GAACAGCTGAAATCAGGGACCGCTTCC GTGGTGTGTCTGCTGAACAATTTCTACC CTCGCGAGGCAAAAGTGCAGTGGAAGG TGGATAACGCCCTGCAGAGTGGCAATT CACAGGAGTCCGTGACCGAACAGGACA GCAAAGATTCTACATATAGTCTGTCATC CACCCTGACACTGAGCAAGGCTGATTA CGAGAAGCACAAAGTGTATGCATGCGA AGTGACTCATCAGGGGCTGAGCTCTCCC GTGACCAAGTCTTTTAACCGGGGTGAAT GTTGA
Light Chain Nucleotide Sequence without the signal sequence (SEQ ID NO: 111)	**GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATC CAGCCTGAGTGCCTCAGTGGGCGATA GGGTGACTATCACCTGTCGGGCCAGC GAGAACATCTACGGCGCTCTGAATTG GTATCAGCAGAAGCCAGGAAAAGCTC CCAAGCTGCTGATCTACGGGGCTACA AACCTGGCAGACGGTGTGCCCAGTCG ATTCTCCGGTAGCGGCTCTGGACGAC AGTATTCACTGACTATCTCTAGTCTG CAGCCTGAAGATTTCGCCACTTACTA TTGCCAGAATGTGCTGATTACTCCAT ATACCTTTGGCGGAGGGACAAAACTG GAGATCAAG**AGAACTGTGGCCGCTCCC AGTGTGTTCATTTTTCCCCCTTCAGACG AACAGCTGAAATCAGGGACCGCTTCCG TGGTGTGTCTGCTGAACAATTTCTACCC TCGCGAGGCAAAAGTGCAGTGGAAGGT GGATAACGCCCTGCAGAGTGGCAATTC ACAGGAGTCCGTGACCGAACAGGACAG CAAAGATTCTACATATAGTCTGTCATCC ACCCTGACACTGAGCAAGGCTGATTAC

	GAGAAGCACAAAGTGTATGCATGCGAA GTGACTCATCAGGGGCTGAGCTCTCCCG TGACCAAGTCTTTTAACCGGGGTGAATG TTGA
Light Chain Variable Domain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 31)	**GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATC CAGCCTGAGTGCCTCAGTGGGCGATA GGGTGACTATCACCTGTCGGGCCAGC GAGAACATCTACGGCGCTCTGAATTG GTATCAGCAGAAGCCAGGAAAAGCTC CCAAGCTGCTGATCTACGGGGCTACA AACCTGGCAGACGGTGTGCCCAGTCG ATTCTCCGGTAGCGGCTCTGGACGAC AGTATTCACTGACTATCTCTAGTCTG CAGCCTGAAGATTTCGCCACTTACTA TTGCCAGAATGTGCTGATTACTCCAT ATACCTTTGGCGGAGGGACAAAACTG GAGATCAAG**

Table 12: Amino acid and nucleotide sequences of humanized anti-human CCL20 antibody light chain LK3

DESCRIPTION	SEQUENCE (signal sequence underlined, variable domain in bold)
Light Chain Amino Acid Sequence with the signal sequence (SEQ ID NO: 8)	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC**DIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALN WYQRKPGKAPKLLIYGATNLADGVPSR FSGSGSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCQ NVLITPYTFGQGTKLEIK**RTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
Light Chain Amino Acid Sequence without the signal sequence (SEQ ID NO: 112)	**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENI YGALNWYQRKPGKAPKLLIYGATNLA DGVPSRFSGSGSGRDYTLTISSLQPEDF ATYYCQNVLITPYTFGQGTKLEIK**RTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
Light Chain Variable Domain Amino Acid Sequence (SEQ ID NO: 16)	**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENI YGALNWYQRKPGKAPKLLIYGATNLA DGVPSRFSGSGSGRDYTLTISSLQPEDF ATYYCQNVLITPYTFGQGTKLEIK**
Light Chain Nucleotide Sequence with the signal sequence (SEQ ID NO: 24)	ATGGACATGAGGGTGCCTGCTCAGCTG CTGGGACTGCTGCTGCTGTGGCTGAGGG GAGCACGATGC**GACATCCAGATGACT CAGAGCCCATCCAGCCTGTCAGCCTC CGTGGGCGACAGGGTGACCATCACAT GTGGAGCATCCGAGAACATCTACGGG GCCCTGAATTGGTATCAGAGGAAGCC**

	CGGCAAAGCTCCTAAGCTGCTGATCT **ACGGTGCCACAAACCTGGCTGATGGC** **GTGCCCTCCAGATTCAGCGGCTCTGG** **AAGTGGGCGCGACTATACTCTGACCA** **TTTCTAGTCTGCAGCCAGAGGATTTC** **GCCACCTACTATTGCCAGAATGTGCT** **GATCACACCCTACACTTTTGGTCAGG** **GCACAAAACTGGAAATTAAG**CGTACG GTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCC CGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGG AACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAAT AACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAA TCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACA GAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGC AAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTC TACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCA ACAGGGGAGAGTGTTGA
Light Chain Nucleotide Sequence without the signal sequence (SEQ ID NO: 113)	**GACATCCAGATGACTCAGAGCCCATC** **CAGCCTGTCAGCCTCCGTGGGCGACA** **GGGTGACCATCACATGTGGAGCATCC** **GAGAACATCTACGGGGCCCTGAATTG** **GTATCAGAGGAAGCCCGGCAAAGCTC** **CTAAGCTGCTGATCTACGGTGCCACA** **AACCTGGCTGATGGCGTGCCCTCCAG** **ATTCAGCGGCTCTGGAAGTGGGCGCG** **ACTATACTCTGACCATTTCTAGTCTGC** **AGCCAGAGGATTTCGCCACCTACTAT** **TGCCAGAATGTGCTGATCACACCCTA** **CACTTTTGGTCAGGGCACAAAACTGG** **AAATTAAG**CGTACGGTGGCTGCACCAT CTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTT GTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCA GAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGG ATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCA GGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAA GGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCAC CCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC ACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT TGA
Light Chain Variable Domain Nucleotide Sequence (SEQ ID NO: 32)	**GACATCCAGATGACTCAGAGCCCATC** **CAGCCTGTCAGCCTCCGTGGGCGACA** **GGGTGACCATCACATGTGGAGCATCC** **GAGAACATCTACGGGGCCCTGAATTG** **GTATCAGAGGAAGCCCGGCAAAGCTC** **CTAAGCTGCTGATCTACGGTGCCACA** **AACCTGGCTGATGGCGTGCCCTCCAG** **ATTCAGCGGCTCTGGAAGTGGGCGCG**

	ACTATACTCTGACCATTTCTAGTCTGC AGCCAGAGGATTTCGCCACCTACTAT TGCCAGAATGTGCTGATCACACCCTA CACTTTTGGTCAGGGCACAAAACTGG AAATTAAG

Table 13: Amino acid sequences encoded by human germline genes

DESCRIPTION	SEQUENCE
IGHV1-46*03 (SEQ ID NO: 57)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT FTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGG STSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSS LRSEDTAVYYCAR
JH4 (SEQ ID NO:117)	WGQGTLVTVSS
IGKV1D-39*01 (SEQ ID NO: 59)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISS YLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYSTPP

[0263] Based on the evaluation results, we selected 36LK3/36HC2 ("HC2/LK3") and 36LC3/36HC2 ("HC2/LC3") for further studies. For these two antibodies, *in vitro* chemotaxis assays were performed in parallel with parental mouse clone 36F7C10 and its chimeric form (comprising a human Fc portion). In this assay, we employed transwell culture plates with B300.19 CCR6+ cells seeded in the upper layer and recombinant human CCL20 ligand in the lower layer. Recombinant human CCL20 (10 nM final, R&D Systems) was pre-incubated with the humanized anti-CCL20 antibodies at room temperature. After 30 min, human CCR6-transduced murine pre-B cells (B300.19, provided by Dr. H. Kawasaki at Tokyo University) were applied to the upper layer and chemotaxis was developed at 37°C for 4 hrs. At the end of incubation, FACS was used to measure migrated cells. The 50%, 90%, and 95% inhibitory concentrations (IC_{50}, IC_{90}, and IC_{95}, respectively) for HC2/LK3 and HC2/LC3 were then calculated (Table 14). Neither of the humanized antibodies lost neutralization activity in comparison with the parental mouse MAb, and IC_{50} values were calculated at around 1 nM.

Table 14: Neutralizing activity of HC2/LK3 and HC2/LC3 against human CCL20 in a chemotaxis assay (in nM)

	Mouse MAb	Chimeric MAb
IC_{50}	1.697 ± 0.464	1.438 ± 0.216
IC_{90}	3.944 ± 0.593	3.510 ± 0.601
IC_{95}	7.680 ± 2.966	5.480 ± 1.179

HuMAb HC2/LK3				
	Assay-1	-2	-3	Average
IC_{50}	0.65	1.09	1.30	1.014 ± 0.330
IC_{90}	3.55	3.35	6.79	4.564 ± 1.928
IC_{95}	7.59	5.41	13.91	8.972 ± 4.417

HuMAb HC2/LC3				
	Assay-1	-2	-3	Average
IC_{50}	0.90	1.26	1.20	1.117 ± 0.193
IC_{90}	4.64	5.82	5.30	5.251 ± 0.591
IC_{95}	11.77	>66.77	10.33	--

The dose responses for a representative trial with the HC2/LK3 antibody are shown in FIGS. 8A-C. Three independent experiments are depicted.

[0264] We further confirmed the neutralizing activity of HC2/LK3 and HC2/LC3 using a transendothelial migration (TEM) assay in which freshly isolated human peripheral blood mononuclear cells were used instead of CCR6-transduced artificial cells. Because CD3+CD4+CD45RO+ memory T cells and CD19+ B cells are well known to be enriched with CCR6-positive cells, we measured the migrated cell numbers of these populations in the presence or absence of the HC2/LK3 and HC2/LC3 antibodies, as well as the parental mouse antibody 36F7C10. Both humanized antibodies (FIGS. 9B and C) demonstrated dose dependent inhibition of cell migration comparable to that of 36F7C10 (FIG. 9A), providing further evidence of their neutralizing activity.

Example 5: Binding of humanized anti-human CCL20 MAbs to human CCL20

[0265] To measure the binding affinity of humanized antibodies HC2/LC3 and HC2/LK3 by surface plasmon resonance (Biacore™), we expressed and purified the antibodies from conditioned media of transiently-transfected HEK293F cells, and captured the antibodies on a CM5 chip coated with anti-human Fc monoclonal antibodies using HBS-EP as the running buffer. We then injected several dilutions (100, 20, 4, 0.8, 0.16, and 0 nM) of human CCL20 protein (R&D Systems) over the coated chip surface, and observed dissociation of bound CCL20 for up to 20 minutes (FIGS. 10A and B). We fitted binding data globally to a 1:1 Langmuir model. The results are shown in Table 15 and represent the average of two independent experiments. Affinity between CCL20 and its receptor,

CCR6, has been reported as 500 pM in primary human cells (Liao *et al.*, *J. Immunol.* **168(10)**:4871-4880 (2002)); these data demonstrate that the affinities of the HC2/LC3 and HC2/LK3 antibodies for CCL20 are approximately 10 times higher than the affinity of CCR6 for CCL20.

Table 15: SPR results of humanized anti-CCL20 antibodies of the invention

Heavy chain/ Light chain	k_a ($x10^5$ M^{-1} sec^{-1})	k_d ($x10^{-5}$ sec^{-1})	K_D (pM)	Standard deviation
HC2/LC3	145	61	44	15
HC2/LK3	166	117	70	7

Example 6: Cross-reactivity of humanized anti-human CCL20 MAbs to chemokine paralogs

[0266] We examined HC2/LK3 and HC2/LC3 for their specificity for human CCL20 by analyzing their cross-reactivity against a chemokine panel (Table 16) using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Table 16: Recombinant human chemokines used in ELISA assay

Chemokine		Maker	Cat. No.
CCL20	MIP-3a/LARC	R&D	#360-MP-025/CF
XCL1	Ltn	R&D	#695-LT-025/CF
CCL28		R&D	#717-VC-025/CF
CCL27	CTACK	R&D	#376-CT-025/CF
CCL25	TECK	GT	#2234X
CCL24	Eotaxin-2/MPIF-2	GT	#2343X
CCL22	MDC	R&D	#336-MD-025/CF
CCL21	6Ckine/SLC	R&D	#366-6C-025/CF
CCL19	MIP-3b	R&D	#361-MI-025/CF
CCL17	TARC	GT	#2364
CCL16	HCC-4	R&D	#802-HC-025/CF
CCL13	MCP-4	GT	#2327X
CCL11	Eotaxin	R&D	#320-EO-020/CF
CCL7	MARC	R&D	#282-P3-010/CF
CCL5	Rantes	CHEMICON	#GF020
CCL4	MIP-1β	R&D	#271-BME-010/CF
CCL3	MIP-1a	GT	#2270X
CCL2	MCP-1/MCAF/JE	PEPRO TECH	#300-04
CCL1	TCA3/I-309	GT	#2272
CXCL16	CXCL16	GT	#2976X
CXCL13	BCA-1/BLC	R&D	#801-CX-025/CF
CXCL12	SDF-1/PBSF	R&D	#350-NS-010/CF

CXCL10	IP-10	PEPRO TECH	#300-12
CXCL9	MIG	GT	#2392X
CXCL8	IL-8	PEPRO TECH	#200-08M
CXCL4	PF4	R&D	#795-P4-025/CF
CXCL2	GROβ	R&D	#276-GB-010/CF
CXCL1	GROα	R&D	#275-GR-010/CF
CX3CL1 (Chemokine Domain)	FKN	R&D	#362-CX-025/CF
CX3CL1 (Extracellular Domain)	FKN	R&D	#365-FR-025/CF

The wells of a 96-well plate were coated with 1 μg/ml of the recombinant human chemokines in PBS (-). After overnight incubation at 4°C, the wells were blocked with 1 x Block-Ace (Dainippon Sumitomo Pharma, UK-B80) for 1 hour at room temperature. After washing twice with 0.02% Tween 20/PBS (-), we added 50 μl of 10 μg/ml purified 36F7C10, chimeric 36F710, HC2/LK3, or HC2/LC3 in 0.02% Tween 20/PBS (-) to each well. The wells were incubated for 1 hour at room temperature and washed three times as described in Example 3. Horseradish peroxidase (HRP)-conjugated anti-mouse IgG antibody (Jackson, #715-035-150, for 36F7C10) or HRP-conjugated anti-human IgG Fcγ fragment (Jackson, #109-035-098, for chimeric and humanized mAbs) was then added (in a 5000 fold dilution with 0.02% Tween 20/PBS (-)) and the wells were incubated for 1 hour at room temperature. After washing five times, a TMBZ (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) solution (1%, in N,N-Dimethylformamide) was added to the wells and incubated for 15-30 minutes. The reaction was stopped by adding an equal volume of a 2 M H_2SO_4 stopping solution, and the optical density was read at 450 nm by ARVO (PerkinElmer). As demonstrated in FIG. 11B, HC2/LK3 and HC2/LC3 bind specifically to human CCL20 over the other chemokines in the panel.

[0267] In these assays, although HC2/LK3 was reactive against plate-bound human CCL20, it appeared less potent than the mouse 36F7C10 or chimeric 36F7C10-hFc antibodies (FIG. 11A). However, the HC2/LK3 showed clear and strong binding against CCL20 anchored via a His-tag in ELISA assays (FIG. 11C), which allowed exposure of all CCL20 portions to the solvent. This may indicate that the CCL20 epitope(s) for HC2/LK3 are buried or occluded in the procedure used to bind CCL20 to the plate surface in the first assay format. To avoid this possible artifact, we employed Biacore™ analysis in which free CCL20 was applied over MAbs captured on a sensor chip. In the Biacore™ assays, HC2/LK3 and HC2/LC3 showed strong CCL20 binding comparable to that of the 36F7C10-hFc chimeric antibody (FIG. 11D). Further, the small reaction against CXCL4 observed in FIG. 11B was found to be negligible in the Biacore™ assays (FIG. 11D).

[0268] Phylogenetic analysis by Dereeper *et al.*, (*Nucleic Acids Res.* **1(36)**:W465-469 (2008)) indicates that CCL16 is the chemokine closest in sequence to CCL20, although the percent identity between CCL20 and CCL16 is less than 37.5% (homology in only 56 out of 70 amino acids comprising the mature CCL20 peptide (SIM – Alignment Tool for protein sequences, Swiss Institute of Bioinformatics)) (FIG. 12). We used Biacore™ analysis to test whether HC2/LK3 and HC2/LC3 cross-react with CCL16. Monoclonal mouse anti-human Fc was immobilized on all four flow cells of a CM5 chip at a flow rate of 25 µl/min with HBS-EP buffer containing 0.2 mg/mL BSA. Subsequently, 50 µl of a 1 µg/ml solution of chimeric, HC2/LC3, or HC2/LK3 antibody in HBS-EP buffer with 0.2 mg/ml BSA was injected over flow cells 2, 3, and 4, respectively. 150 µl of a 100 nM solution of CCL20 or CCL16 in HBS-EP buffer (or buffer alone) with 0.2 mg/ml BSA was then injected over all four flow cells at a flow rate of 40 µl/min. Dissociation followed for 20 min. Flow cell 1 (anti-human Fc antibody alone) was used as a reference for all flow cells.

[0269] Under these conditions, human CCL20 bound to the chimeric (FIG. 13A), HC2/LC3 (FIG. 13B), and HC2/LK3 (FIG. 13B) antibodies captured on the chip with similar strength. By contrast, no significant binding was detected when human CCL16 was run through the chip, indicating that although CCL16 is the chemokine closest in sequence to CCL20, CCL20 and CCL16 do not possess sufficient homology (<37%, as discussed above) to allow the humanized anti-CCL20 antibodies to cross-react with CCL16.

[0270] These data indicate that HC2/LK3 and HC2/LC3 are specific for human CCL20 over other chemokines.

Example 7: Cross-reactivity of humanized anti-human CCL20 MAbs to species orthologs

[0271] We then determined the cross-reactivity of the HC2/LC3 and HC2/LK3 MAbs to CCL20 from other species. Amino acid sequence alignments among CCL20 orthologs (obtained using SIM – alignment tool for protein sequences (Swiss Institute of Bioinformatics)) indicate that the identity between cynomolgus/rhesus and human CCL20 is 86%, while the homology between mouse and human CCL20 is 64% (FIG. 14; human CCL20 – SEQ ID NO: 85; rhesus CCL20 – SEQ ID NO: 86; cynomolgus CCL20 – SEQ ID NO: 87; partial mouse CCL20 – SEQ ID NO: 88 (the entire mouse CCL20 amino acid sequence may be found in SEQ ID NO: 102; residues 1-27 constitute the signal sequence; see Table 18)).

[0272] To test whether the chimeric and humanized antibodies can bind to mouse, cynomolgus, or rhesus macaque CCL20 orthologs, we used ELISA assays as illustrated in FIG. 15. Recombinant secreted alkaline phosphatase (SEAP)-chemokine fusion proteins were engineered as described in Example 2, expressed and purified for all of the CCL20 orthologs tested. Nunc MaxiSorb flat-bottom black plates were coated with 1 µg/ml mouse anti-placental alkaline phosphatase antibody (Pierce,

cat# MA1-19354) in 50 mM sodium bicarbonate, pH 9.4, overnight at 4°C. Plates were then blocked using 1X phosphate buffered saline with Tween-20 (PBST) with 5% bovine serum albumin (BSA) for 2 hours at room temperature. 20 nM SEAP-CCL20 fusion proteins were serially diluted 5-fold in Opti-MEM medium (Invitrogen). Chimeric and humanized (HC2/LC3 and HC2/LK3) antibodies were diluted to 1 µg/ml in 1X PBST with 5% BSA, added to the plates, and incubated for 1 hr at room temperature. The plates were then washed with 1X PBST with 5% BSA three times. Goat anti-human IgG+IgM (H+L) HRP conjugate (Jackson ImmunoResearch cat# 109-035-127) was diluted to 80 ng/ml, added to the plate, and incubated for 1 hour at room temperature. QuantaBlu fluorescent HRP substrate (Pierce cat# 15169) was added for detection of bound antibody by measuring fluorescence in a Molecular Devices M5 (Excitation 325 nm/Emission 420 nm) plate reader.

[0273] While the hamster anti-mouse CCL20 antibody 2F5-5 MAb bound mouse CCL20 with a 50% effective dose (EC_{50}) of 64 pM (data not shown), neither the chimeric nor humanized anti-human CCL20 antibodies bound detectably to mouse CCL20 or rat CCL20 under the conditions described above. By contrast, both the chimeric and humanized antibodies effectively bound to human, rhesus, and cynomolgus CCL20 (FIGS. 16A-C, 17A and B). While the EC_{50} for human and rhesus CCL20 appeared similar (for example, 62 and 101 pM for HC2/LC3), the EC_{50} for cynomolgus CCL20 was 340 pM for HC2/LC3, a 5.4 fold difference versus human CCL20. Similar results were seen for HC2/LK3. This suggests that a much greater concentration of antibody was required to achieve the same amount of binding to cynomolgus CCL20 as to human or rhesus CCL20.

Example 8: Surface plasmon resonance assays for cross-reactivity of humanized anti-CCL20 MAbs to CCL20 species orthologs

[0274] We also used surface plasmon resonance (Biacore™) analysis to test whether HC2/LC3 and HC2/LK3 can bind to mouse, cynomolgus, or rhesus macaque CCL20 orthologs. Monoclonal mouse anti-human placental alkaline phosphatase was immobilized on all four flow cells of a CM5 chip at a flow rate of 25 µl/min. 25 µl of a 2 nM solution of human, rhesus, cynomolgus, or mouse CCL20-SEAP in HBS-EP buffer was injected over flow cell 2, 3, or 4. For antibody binding, 240 µl of 0-80 nM dilutions of HC2/LC3, HC2/LK3, or 2F5-5 MAb in HBS-EP buffer (or buffer alone) was injected over all four flow cells at a flow rate of 50 µl/min. Dissociation followed for 45 min. Flow cell 1 (anti-SEAP alone) was used as a reference for all flow cells. Regeneration of the flow cells was performed with 10 mM glycine at pH 2.25. Due to regeneration effects on the capturing capacity of the chips, antibody injections were performed sequentially from low to high concentration. Data fitting was performed using a 1:1 Langmuir model.

[0275] Under the above conditions, hamster anti-mouse CCL20 antibody 2F5-5 bound mouse CCL20 with a (bivalent) K_D of 4.9 pM, but did not significantly bind human, rhesus, or cynomolgus

CCL20. In contrast, chimeric, HC2/LC3, and HC2/LK3 antibodies effectively bound to human, rhesus, and cynomolgus CCL20 (Table 17).

[0276] The apparent affinity values measured were higher in this assay than previously detected in Example 5 (for example 4.7 pM for HC2/LC3 in the present assay vs. 44 pM in Table 3) due to the bivalent (higher affinity) nature of the assay format used (versus the monovalent format used for the data shown in Table 15). The K_D values for rhesus and cynomolgus CCL20 were generally higher (3-fold) than for human CCL20, indicating that the antibodies bound more specifically to human CCL20. In contrast to the ELISA data from Example 7, however, we observed no significant difference between binding affinity for rhesus and cynomolgus CCL20.

Table 17: Assessment of anti-CCL20 humanized monoclonal antibody binding to CCL20 orthologs by Biacore™

Antibody	Ligand	k_a ($x10^5 M^{-1}sec^{-1}$)	k_d ($x10^{-5} sec^{-1}$)	K_D (pM)
Chimeric clone 36F7C10[a]	hCCL20	29	2.08	7.16
	rCCL20	29.4	1.78	6.05
	cCCL20	38.3	5.04	13.2
HC2/LC3	hCCL20	56.9	2.68	4.71
	rCCL20	41.3	7.51	18.2
	cCCL20	86.4	13.4	15.5
HC2/LK3	hCCL20	28.8	3.39	11.8
	rCCL20	26.3	8.21	31.2
	cCCL20	52.8	14.9	28.3
Hamster anti-mouse 2F5-5[b]	hCCL20	No binding	No binding	No binding
	rCCL20	No binding	No binding	No binding
	cCCL20	No binding	No binding	No binding
	mCCL20	9.63	0.474	4.92

[a]: Previously shown not to bind mCCL20

[b]: Hamster anti-mouse data from earlier chip

Example 9: Epitope Mapping for Mouse Anti-Human CCL20 Clone 36F7C10

[0277] To determine the human CCL20 epitope(s) to which mouse anti-human CCL20 monoclonal antibody 36F7C10 binds, we used a hydrogen/deuterium exchange method in which antibody binding protects and thus preserves deuteration of the epitope. As shown in FIG. 18A, we observed very

strong perturbations near the N-terminus of human CCL20 at residues 7-9, 10-19, and 20-22, possibly representing the epitope(s). Marginal protection was also observed near the C-terminus at residues 39-55, 56-67, and 61-70. These segments may be peripheral to the epitope, or their breathing motions may be conjugated to the epitope. The deuteration level of each indicated amino acid is shown at four timepoints: from top to bottom, 150, 500, 1,500, and 5,000 s.

[0278] The regions identified as the epitope for 36F7C10 fall within the N-terminal and loop regions of CCL20, which are known to be critical for CCR6 binding and signaling (Malik *et al.*, *Acta Cryst* **F62**:631-634 (2006))(FIG. 18B). Chimeric and humanized antibodies derived from 36F7C10, especially antibodies with the same heavy and light chain CDR1, CDR2 and CDR3 amino acid sequences as 36F7C10, or similar heavy and light chain CDR1, CDR2 and CDR3 amino acid sequences as 36F7C10 (*e.g.*, with less than 3, 2 or 1 amino acid substitutions as compared to the CDRs of 36F7C10) are expected to bind to the same epitope. The identification of this epitope may thus explain the ability of the 36F7C10 MAb and chimeric and humanized antibodies derived therefrom to neutralize CCL20 activity.

Example 10: *In vivo* chemotaxis assay for humanized anti-human CCL20 antibodies

[0279] To test whether HC2/LC3 and HC2/LK3 can inhibit CCL20-induced chemotaxis *in vivo*, we took advantage of the fact that human CCL20 can interact with mouse CCR6 (SEQ ID NO: 106) to induce chemotaxis of mouse T cells (FIG. 19). We used a hybrid *in vivo* system measuring the migration of mouse T cells towards intradermally injected human CCL20 (FIG. 20).

[0280] Recombinant human CCL20 (10 ng/head) and vehicle were intradermally injected into the shaved skin on the right and left sides, respectively, of the backs of the test mice (groups of n=3). Calcein-AM-labeled mouse splenic T cells ($5x10^6$ cells/mouse) were then transferred intravenously into the tail vein, with simultaneous injection of the indicated antibodies into the tail vein at the dosages described in FIG. 20. After one hour, the fluorescent positive cells were counted using a stereoscopic microscope at the site of the intradermal injections.

[0281] Both HC2/LK3 and HC2/LC3 significantly inhibited cell migration to the CCL20-injected sites at a level comparable to that of parental mouse antibody 36F7C10 and its chimeric form. Because the chemotaxis of T cells is a key step in the inflammatory cascade, prevention of this migration has clinical implications for the treatment of autoimmune and inflammatory conditions.

Example 11: Effect of 2F5-5 MAb on type II collagen-induced arthritis

[0282] To further evaluate the use of anti-CCL20 antibodies for therapeutic indications, we performed further *in vivo* studies in mice using the hamster anti-mouse 2F5-5 MAb. First, we evaluated the ability of 2F5-5 to neutralize CCL20-mediated chemotaxis in CIA mice (an animal

model of rheumatoid arthritis). CIA was induced essentially as described in Example 1. After the development of arthritis (arthritis score 1-3), mice were randomized and treated with 500 μg/mouse of either 2F5-5 MAb or a control IgG antibody. In both cases, the antibody was administered intravenously every other day. Compared to the control IgG, 2F5-5 MAb inhibited the further development of arthritis symptoms (FIGS. 21, 22).

[0283] We also used X-ray scoring to determine the effects of 2F5-5 MAb on bone lesions, which are frequently seen in rheumatoid arthritis. Scoring was performed as described in Inoue *et al.*, *Agents Actions* **39**:187-194 (1993). Briefly, each paw of a CIA mouse was graded on a scale of 0 to 3 based on the severity of osteoporosis (O), bone erosion (E), and new bone formation (N) according to X-ray images. The scale used was: 0, no change; 1, slight change; 2, moderate change; and 3, severe change. The scores for each factor were added to develop a cumulative X-ray score for bone lesions. Mice treated with 2F5-5 MAb demonstrated remarkably less severe X-ray scores on day 39, as compared to mice treated with a control IgG (FIGS. 23, 24).

[0284] We confirmed the effect of 2F5-5 MAb treatment on bone pathology by analyzing several biomarkers using ELISA. CIA mice were immunized and treated with 500 μg of 2F5-5 or control IgG antibody as described above. Plasma samples were prepared from the mice on day 11 or 12 after the second immunization. A marker of cartilage destruction, serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP), was quantified using the Animal COMP ELISA Enzyme immunoassay kit (AnaMar Medical) according to the manufacturer's instructions (incorporated herein by reference), except that animal plasma samples were diluted 1:20. Because COMP is pre-coated on the plate, this is a competition ELISA, whereby addition of the COMP standard or COMP-containing plasma results in a decrease in OD_{450} (FIG. 25A). Raw data from a sample assay is shown in FIGS. 25B and 25C. COMP serum levels in CIA mice were reduced almost to normal levels by treatment with 2F5-5 MAb (FIG. 26), demonstrating the ability of 2F5-5 to inhibit cartilage destruction.

[0285] Because the formation and differentiation of osteoclasts is responsible for RA-related osteoporosis and erosion, we measured the levels of osteoclast induction molecule receptor activator for nuclear factor κB ligand (RANKL), and osteoclast markers such as the receptor activator for nuclear factor κB (RANK), tartrate resistant acid phosphatase (TRAP), and cathepsin K, as indicators for arthritic therapy. We evaluated mRNA expression levels of these markers by quantitative PCR using total RNA isolated from homogenized mouse paws. The paws were first homogenized with a homogenizer after soaking in a tissue lysing buffer containing Trizol reagent (Invitrogen, CA, USA). After adding chloroform, samples were centrifuged at 14,000 rpm for 15 minutes at 4°C to separate the solution into aqueous and organic phases. The aqueous phase was removed and isopropanol added to it, followed by centrifugation at 14,000 rpm for 15 minutes at 4°C to obtain RNA pellets. RNA pellets dissolved with RNAse free water were used in an RNAeasy mini kit (QIAGEN,

Valencia, CA, USA) to isolate the RNA and treated with DNAse to remove any DNA. Complimentary DNA (cDNA) was generated from the RNA with an RT reaction kit (RNA PCR Kit, TAKARA Bio, Inc. Shiga, Japan) according to the manufacturer's protocol. Quantitative real time PCR for each cDNA species was performed and compared to the level of a housekeeping gene, hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase (HPRT). The following forward and reverse primer sets were used in the PCR reactions:

RANKL, 5'-CATTTGCACACCTCACCATC-3' (SEQ ID NO: 89) and
5'-TCCGTTGCTTAACGTCATGT-3' (SEQ ID NO: 90);
RANK, 5'-CGGCGTTTACTACAGGAAGG-3' (SEQ ID NO: 91) and
5'-TTCTTGCTGACTGGAGGTTG-3' (SEQ ID NO: 92);
TRAP, 5'-GCTGGAAACCATGATCACCT-3' (SEQ ID NO: 93) and
5'-GGTAGTAAGGGCTGGGGAAG-3' (SEQ ID NO: 94);
Cathepsin K, 5'-CAGTGTTGGTGGTGGGCTAT-3' (SEQ ID NO: 95) and
5'-CCGAGCCAAGAGAGCATATC-3' (SEQ ID NO: 96); and
HPRT, 5'-CAGGCCAGACTTTGTTGGAT-3' (SEQ ID NO: 97) and
5'-TTGCGCTCATCTTAGGCTTT-3' (SEQ ID NO: 98).

All primers were designed using web-based software Primer 3 (Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA, USA) to avoid non-specific amplification of RNA. Reaction mixtures with cDNA template, primers, uracil DNA glycosylase (Invitrogen, CA, USA), and QuantiTect SYBR Green PCR Master Mix (QIAGEN, Valencia, CA, USA) were used in the amplification reaction in an ABI PRISM 7700 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster, CA, USA). Expression levels were automatically quantified by ABI PRISM 7700 Sequence Detector Software.

[0286] Following 2F5-5 MAb treatment, mRNA levels were suppressed for all markers in the joint tissue (FIGS. 27A and B; show fold change in expression level compared to housekeeping gene HPRT), providing further evidence that 2F5-5 inhibits bone pathology *in vivo*.

Example 12: Effects of 2F5-5 MAb on glucose-6-phosphate isomerase-induced arthritis

[0287] We tested the anti-arthritic effects of 2F5-5 MAb treatment in mice with glucose-6-phosphate isomerase (G6PI)-induced arthritis, another mouse model for RA. Arthritis was induced by intradermal sensitization with recombinant GST-G6PI (300 μg/mouse) emulsified in complete Freund's adjuvant and injected at the base of the tail of DBA/1 mice. Six days after the G6PI immunization and just prior to the onset of joint swelling, mice were randomized and treated with 500 μg/mouse of either isotype-matched antibody or 2F5-5 MAb. The severity of arthritic symptoms in the paws of each mouse was graded as described previously in Example 1. Mice treated with 2F5-5

MAb exhibited significantly lower arthritic scores than mice treated with isotype-matched antibodies, showing that 2F5-5 strongly suppresses arthritis development compared to the control (FIG. 28).

[0288] These data demonstrate the efficacy of anti-CCL20 antibody treatment in *in vivo* arthritis models, and suggest that the use of anti-CCL20 antibodies may be beneficial in the treatment of rheumatoid arthritis.

Example 13: Effect of 2F5-5 MAb on oxazolone-induced atopic dermatitis

[0289] We then evaluated the effect of 2F5-5 MAb treatment in mouse models of dermatitis. In one model, oxazolone was used to induce atopic dermatitis in mice prone to the disease (NC/Nga strain). The abdominal skin of the mice was shaved and exposed to oxazolone on days 0, 5, and 8. On day 13, mice showing signs of dermatitis (score 2) were selected and immunized again with oxazolone. Mice were thereafter randomized in groups of six for treatment with either 2F5-5 MAb or an isotype-matched control IgG antibody (500 μg/mouse, administered intravenously every other day). We assayed dermatitis scores in a blind study as follows: each dermatitis symptom such as dryness, scale, erythema, oozing/crusting, and excoriation was scored on a scale of 0 to 3 (0 = none, 1 = slight, 2 = moderate, 3 = severe); these scores were then added for a cumulative dermatitis score (as described in Leung *et al.*, *J. Allergy Clin. Immunol.* **85(5)**:927-933 (1990)). We compared the magnitude of disease suppression between the two groups by quantifying the area under the curve ("AUC") from day 13 to day 18. In this dermatitis model, 2F5-5 MAb induced a statistically significant ($p<0.05$) suppression of disease progression compared to control IgG (FIG. 29).

Example 14: Effect of 2F5-5 MAb on DNFB-induced allergic contact dermatitis

[0290] We tested the effect of 2F5-5 MAb treatment in dinitrofluorobenzene (DNFB)-induced allergic contact dermatitis, a second mouse model of dermatitis. Mice were divided into groups of 6 and sensitized by brushing 25 μl of DNFB solution (0.4% DNFB in a 4:1 solution of acetone:olive oil) on the shaved abdomen for two successive days (days 0 and 1). One group was treated with 2F5-5 MAb, while the other group was treated with an isotype-matched control antibody (500 μg/mouse intravenously on days 0, 2, and 5). On day 5, the mice were re-challenged by applying 20 μl of 0.2% DNFB solution (in 4:1 acetone:olive oil) to one side of one ear. Ear thickness was measured as an indicator of edema on day 6 using a thickness gauge. Treatment with 2F5-5 MAb reduced ear thickness, indicating successful prevention of dermatitis development (FIG. 30).

[0291] All publications, patents, and patent applications cited in this specification are incorporated herein by reference. Although the foregoing invention has been described in some detail by way of illustration and example for purposes of clarity of understanding, it will be readily apparent to those of

ordinary skill in the art in light of the teachings of this invention that certain changes and modifications may be made thereto without departing from the spirit or scope of the appended claims.

Table 18: Amino acid and nucleotide sequences for human and mouse CCL20 and CCR6

Description	Sequence Type	Sequence (signal sequences underlined)	SEQ ID NO:
Human CCL20 with signal sequence	Amino Acid	mcctkslllaalmsvlllhlcgeseaasnfdcclgytdri lhpkfivgftrqlanegcdinaiifhtkkklsvcanpkqt wvkyivrllskkvknm	85
	Nucleotide	atgtgctgtaccaagagtttgctcctggctgctttgatgt cagtgctgctactccacctctgcggcgaatcagaagcagc aagcaactttgactgctgtcttggatacacagaccgtatt cttcatcctaaatttattgtgggcttcacacggcagctgg ccaatgaaggctgtgacatcaatgctatcatctttcacac aaagaaaaagttgtctgtgtgcgcaaatccaaaacagact tgggtgaaatatattgtgcgtctcctcagtaaaaaagtca agaacatg	101
Human CCL20 without signal sequence	Amino Acid	asnfdcclgytdrilhpkfivgftrqlanegcdinaiifh tkkklsvcanpkqtwvkyivrllskkvknm	99
	Nucleotide	gcaagcaactttgactgctgtcttggatacacagaccgta ttcttcatcctaaatttattgtgggcttcacacggcagct ggccaatgaaggctgtgacatcaatgctatcatctttcac acaaagaaaaagttgtctgtgtgcgcaaatccaaaacaga cttgggtgaaatatattgtgcgtctcctcagtaaaaaagt caagaacatg	100
Mouse CCL20 with signal sequence	Amino Acid	macggkrllflalawvllahlcsqaeaasnydcclsyiqt plpsraivgftrqmadeacdinaiifhtkkrksvcadpkq nwvkravnllslrvkkm	102
	Nucleotide	atggcctgcggtggcaagcgtctgctcttccttgctttgg catgggtactgctggctcacctctgcagccaggcagaagc agcaagcaactacgactgttgcctctcgtacatacagacg cctcttccttccagagctattgtgggtttcacaagacaga tggccgatgaagcttgtgacattaatgctatcatctttca cacgaagaaaagaaaatctgtgtgcgctgatccaaagcag aactgggtgaaaagggctgtgaacctcctcagcctaagag tcaagaagatg	103
Human CCR6	Amino Acid	msgesmnfsdvfdssedyfvsvntsyysvdsemllcslqe vrqfsrlfvpiayslicvfgllgnilvvitfafykkarsm tdvyllnmaiadilfvltlpfwavshatgawvfsnatckl lkgiyainfncgmllltcismdryiaivqatksfrlrsrt lprskiiclvvwglsviissstfvfnqkyntqgsdvcepk yqtvsepirwkllmlglellfgffiplmfmifcytfivkt lvqaqnskrhkairviiavvlvflacqiphnmvllvtaan lgkmnrscqsekligytktvtevlaflhcclnpvlyafig qkfrnyflkilkdlwcvrrkykssgfscagrysenisrqt setadndnassftm	104
	Nucleotide	atgagcggggaatcaatgaatttcagcgatgttttcgact ccagtgaagattattttgtgtcagtcaatacttcatatta ctcagttgattctgagatgttactgtgctccttgcaggag gtcaggcagttctccaggctatttgtaccgattgcctact ccttgatctgtgtctttggcctcctggggaatattctggt ggtgatcacctttgctttttataagaaggccaggtctatg acagacgtctatctcttgaacatggccattgcagacatcc tctttgttcttactctcccattctgggcagtgagtcatgc caccggtgcgtgggttttcagcaatgccacgtgcaagttg ctaaaaggcatctatgccatcaactttaactgcgggatgc	105

		tgctcctgacttgcattagcatggaccggtacatcgccat tgtacaggcgactaagtcattccggctccgatccagaaca ctaccgcgcagcaaaatcatctgccttgttgtgtgggggc tgtcagtcatcatctccagctcaacttttgtcttcaacca aaaatacaacacccaaggcagcgatgtctgtgaacccaag taccagactgtctcggagcccatcaggtggaagctgctga tgttggggcttgagctactctttggtttctttatcccttt gatgttcatgatattttgttacacgttcattgtcaaaacc ttggtgcaagctcagaattctaaaaggcacaaagccatcc gtgtaatcatagctgtggtgcttgtgtttctggcttgtca gattcctcataacatggtcctgcttgtgacggctgcaaat ttgggtaaaatgaaccgatcctgccagagcgaaaagctaa ttggctatacgaaaactgtcacagaagtcctggctttcct gcactgctgcctgaaccctgtgctctacgcttttattggg cagaagttcagaaactactttctgaagatcttgaaggacc tgtggtgtgtgagaaggaagtacaagtcctcaggcttctc ctgtgccgggaggtactcagaaaacatttctcggcagacc agtgagaccgcagataacgacaatgcgtcgtccttcacta tg	
Mouse CCR6	Amino Acid	mnstesyfgtddydnteyysippdhgpcsleevrnftkvf vpiayslicvfgllgnimvvmtfafykkarsmtdvyllnm aitdilfvltlpfwavthatntwvfsdalcklmkgtyavn fncgmlllacismdryiaivqatksfrvrsrtlthskvic vavwfisiiissptfifnkkyelqdrdvcepryrsvsepi twkllgmglelffgfftpllfmvfcylfiiktlvqaqnsk rhrairvviavvlvflacqiphnmvllvtavntgkvgrsc stekvlaytrnvaevlaflhcclnpvlyafigqkfrnyfm kimkdvwcmrrknkmpgflcarvysesyisrqtsetvend nassftm	106
	Nucleotide	atgaattccacagagtcctactttggaacggatgattatg acaacacagagtattattctattcctccagaccatgggcc atgctccctagaagaggtcagaaacttcaccaaggtattt gtgccaattgcctactccttaatatgtgtctttggcctcc tgggcaacattatggtggtgatgacctttgccttctacaa gaaagccagatccatgactgacgtctacctgttgaacatg gccatcacagacatactctttgtcctcaccctaccgttct gggcagttactcatgccaccaacacttgggttttcagcga tgcactgtgtaaactgatgaaaggcacatatgcggtcaac tttaactgtgggatgctgctcctggcctgtatcagcatgg accggtacattgccatcgtccaggcaaccaaatctttccg ggtacgctccagaacactgacgcacagtaaggtcatctgt gtggcagtgtggttcatctccatcatcatctcaagcccta catttatcttcaacaagaaatacgagctgcaggatcgtga tgtctgtgagccacggtacaggtctgtctcagagcccatc acgtggaagctgctgggtatgggactggagctgttctttg ggttcttcacccctttgctgtttatggtgttctgctatct gttcattatcaagaccttggtgcaggcccagaactccaag aggcacagagcaatccgagtcgtgatcgctgtggttctcg tgttcctggcttgtcagatccctcacaacatggtcctcct cgtgactgcggtcaacacgggcaaagtgggccggagctgc agcaccgagaaagtcctcgcctacaccaggaacgtggccg aggtcctggctttcctgcattgctgcctcaaccccgtgtt gtatgcgtttattggacagaaattcagaaactacttcatg aagatcatgaaggatgtgtggtgtatgagaaggaagaata agatgcctggcttcctctgtgcccgggtttactcggaaag ctacatctccaggcagaccagtgagaccgtcgaaaatgat aatgcatcgtcctttaccatg	107

Table 19: Sequence Identification Numbers

SEQ ID NO		Description	
1	HC2	Full-Length Heavy Chain (HC)	Amino Acid Sequence
2	HC3		
3	36HKK3		
4	42HKK1		
5	42HKK2		
6	42HKK3		
7	LC3	Full-Length Light Chain (LC)	
8	LK3		
9	HC2	Heavy Chain Variable Domain (VH)	
10	HC3		
11	36HKK3		
12	42HKK1		
13	42HKK2		
14	42HKK3		
15	LC3	Light Chain Variable Domain (VL)	
16	LK3		
17	HC2	Full-Length Heavy Chain (HC)	Nucleotide Sequence
18	HC3		
19	36HKK3		
20	42HKK1		
21	42HKK2		
22	42HKK3		
23	LC3	Full-Length Light Chain (LC)	
24	LK3		
25	HC2	Heavy Chain Variable Domain (VH)	
26	HC3		
27	36HKK3		
28	42HKK1		
29	42HKK2		
30	42HKK3		
31	LC3	Light Chain Variable Domain (VL)	
32	LK3		
33	36F7C10	Heavy Chain Signal Sequence	Amino Acid Sequence
34		Light Chain Signal Sequence	
35	40-1C10B9	Heavy Chain Signal Sequence	
36		Light Chain Signal Sequence	
37	42G5B10	Heavy Chain Signal Sequence	
38		Light Chain Signal Sequence	
39	36F7C10	VH	
40		VL	
41	40-1C10B9	VH	
42		VL	
43	42G5B10	VH	
44		VL	
45	36F7C10	Heavy Chain Signal	Nucleotide Sequence

		Sequence	
46		Light Chain Signal Sequence	
47	40-1C10B9	Heavy Chain Signal Sequence	
48		Light Chain Signal Sequence	
49	42G5B10	Heavy Chain Signal Sequence	
50		Light Chain Signal Sequence	
51	36F7C10	VH	
52		VL	
53	40-1C10B9	VH	
54		VL	
55	42G5B10	VH	
56		VL	
57	IGHV1-46*03 Germline Sequence		
58	JH4 Germline Sequence		
59	IGKV1D-39*01 Germline Sequence		
60	Mouse 36F7C10 HC2 HC3 36HKK3	H-CDR1 (Kabat)	NYWMH
61	Mouse 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3		SYWMH
62	IGHV1-46*03/ ABM67212		SYYMH
63	Mouse 36F7C10 HC3 36HKK3	H-CDR2 (Kabat)	VIDPSDSYTTYNQKFKG
64	HC2		VIDPSDSYTTYAQKFQG
65	Mouse 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3		LIDPSDKYTNYNQKFKG
66	IGHV1-46*03/ ABM67212		IINPSGGSTSYAQKFQG
67	Mouse 36F7C10 HC2 HC3 36HKK3	H-CDR3 (Kabat or Chothia)	GNYGVDYAMDY
68	Mouse 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3		GNYGVDYGMDY
69	ABM67212		EGDGYIQAFDY
70	Mouse 36F7C10 LK3	L-CDR1 (Kabat or Chothia)	GASENIYGALN
71	LC3		RASENIYGALN
72	IGKV1D-39*01/ BAH04867.1		RASQSISSYLN
73	Mouse 36F7C10	L-CDR2	GATNLAD

	LC3 LK3	(Kabat or Chothia)	
74	IGKV1D-39*01/ BAH04867.1		AASSLQS
75	Mouse 36F7C10 LC3 LK3	L-CDR3 (Kabat or Chothia)	QNVLITPYT
76	BAH04867.1		QQSYSTPYT
77	Mouse 36F7C10 HC2 HC3 36HKK3	H-CDR1 (Chothia)	GYTFTNY
78	Mouse 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3 IGHV1-46*03/ ABM67212		GYTFTSY
79	Mouse 36F7C10 HC2 HC3 36HKK3	H-CDR2 (Chothia)	VIDPSDSYTT
80	Mouse 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3		LIDPSDKYTN
81	IGHV1-46*03/ ABM67212		IINPSGGSTS
82	ABM67212	VH	
83	BAH04867.1	VL	
84	Human CCL20 variant (without signal sequence) amino acid sequence		
85	Human CCL20 (with signal sequence) amino acid sequence		
86	Rhesus CCL20 amino acid sequence		
87	Cynomolgus CCL20 amino acid sequence		
88	Mouse CCL20 amino acid sequence (partial)		
89	5'-CATTTGCACACCTCACCATC-3'	RANKL	Primers
90	5'-TCCGTTGCTTAACGTCATGT-3'		
91	5'-CGGCGTTTACTACAGGAAGG-3'	RANK	
92	5'-TTCTTGCTGACTGGAGGTTG-3'		
93	5'-GCTGGAAACCATGATCACCT-3'	TRAP	
94	5'-GGTAGTAAGGGCTGGGGAAG-3'		
95	5'-CAGTGTTGGTGGTGGGCTAT-3'	Cathepsin K	
96	5'-CCGAGCCAAGAGAGCATATC-3'		
97	5'-CAGGCCAGACTTTGTTGGAT-3'	HPRT	
98	5'-TTGCGCTCATCTTAGGCTTT-3'		
99	Human CCL20 (without signal sequence) amino acid sequence		
100	Human CCL20 (without signal sequence) nucleotide sequence		
101	Human CCL20 (with signal sequence) nucleotide sequence		
102	Mouse CCL20 (with signal sequence) amino acid sequence		
103	Mouse CCL20 (with signal sequence) nucleotide sequence		
104	Human CCR6 amino acid sequence		

105	Human CCR6 nucleotide sequence
106	Mouse CCR6 amino acid sequence
107	Mouse CCR6 nucleotide sequence
108	HC2 full-length amino acid sequence (without signal sequence)
109	HC2 full-length nucleotide sequence (without signal sequence)
110	LC3 full-length amino acid sequence (without signal sequence)
111	LC3 full-length nucleotide sequence (without signal sequence)
112	LK3 full-length amino acid sequence (without signal sequence)
113	LK3 full-length nucleotide sequence (without signal sequence)
114	partial CCL20 amino acid sequence
115	partial CCL16 amino acid sequence

Table 20: Humanized and Mouse Antibody Sequences

		Amino Acid Sequences										Nucleotide Sequences			
		HC	LC	VH	VL	H-CDR 1	H-CDR 2	H-CDR 3	L-CDR 1	L-CDR 2	L-CDR 3	HC	LC	VH	VL
Humanized Anti-Human CCL20 Ab Chains	HC2	1		9		K: 60 C: 77	K: 64 C: 79	K: 67 C: 67				17		25	
	HC3	2		10		K: 60 C: 77	K: 63 C: 79	K: 67 C: 67				18		26	
	36HKK3	3		11		K: 60 C: 77	K: 63 C: 79	K: 67 C: 67				19		27	
	42HKK1	4		12		K: 61 C: 78	K: 65 C: 80	K: 68 C: 68				20		28	
	42HKK2	5		13		K: 61 C: 78	K: 65 C: 80	K: 68 C: 68				21		29	
	42HKK3	6		14		K: 61 C: 78	K: 65 C: 80	K: 68 C: 68				22		30	
	LC3		7		15				71	73	75		23		31
	LK3		8		16				70	73	75		24		32
Mouse Anti-Human CCL20 Abs	36F7C10			39	40	K: 60 C: 77	K: 63 C: 79	K: 67 C: 67	70	73	75			51	52
	40-1C10B9			41	42									53	54
	42G5B10			43	44	K: 61 C: 78	K: 65 C: 80	K: 68 C: 68						55	56

ANTICUERPOS NEUTRALIZADORES ANTI-CCL20

[0001] Esta solicitud reivindica prioridad sobre la Solicitud de Patente Provisoria de los EE. UU. n.º 61/415614, que fue presentada el 19 de noviembre de 2010. La descripción de esta solicitud se incorpora por completo en la presente a modo de referencia.

Listado de secuencias

[0001.1] La aplicación instantánea contiene un Listado de secuencias que ha sido presentado en formato ASCII vía EFS-Web y por este medio se incorpora por referencia en su totalidad. Dicha copia ASCII, creada el 14 de diciembre de 2011, se llama 106806WO1.txt y tiene un tamaño de 113712 bytes.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

[0002] La presente invención se relaciona con nuevos anticuerpos humanizados, quiméricos y murinos que están dirigidos específicamente contra el ligando de la quimioquina humana CC 20 (CCL20). Los anticuerpos humanizados de la invención son particularmente apropiados como agentes terapéuticos para tratar enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[0003] El sistema inmune es un circuito biológico muy sofisticado que opera en el cuerpo para distinguir los componentes no propios (por ejemplo, las sustancias o los organismos extraños) y los componentes propios. La detección de

componentes no propios en el cuerpo puede dar como resultado una inflamación, en la cual participan diversos componentes celulares y moleculares para responder a los acontecimientos potencialmente nocivos que son provocados por la sustancia o el organismo extraño. Aunque el proceso inflamatorio ayuda a proteger el cuerpo de un ataque externo, la desregulación del sistema inmune puede tener consecuencias negativas, tales como un ataque a componentes propios, como es el caso de las enfermedades autoinmunes. Mediante la alteración de la función de las moléculas inflamatorias, tales como las quimioquinas, puede reducirse el inicio y el progreso de los trastornos relacionados con las respuestas inmunes/inflamatorias.

[0004] Las quimioquinas son una familia de proteínas pequeñas (de 8-10 kDa) que cumplen una función fundamental en la inflamación. Durante el proceso inflamatorio, las quimioquinas se producen localmente en el sitio en el que se encuentra el estímulo nocivo, donde tienen una participación central en el reclutamiento de células inmunes en las que se expresan receptores conocidos, que pueden ser receptores con siete dominios transmembrana que están ligados a la proteína G (GPCR). CCL20, que también se conoce como la quimioquina que es regulada por el hígado y por la activación (LARC), la proteína inflamatoria de los macrófagos 3 alfa (MIP-3α) o Exodus-1, es una quimioquina soluble que se expresa en las células epiteliales. Se sabe que los queratinocitos epiteliales y las células que recubren las membranas sinoviales producen grandes cantidades de CCL20 en presencia de afecciones inflamatorias y patológicas, tales como el cáncer, la psoriasis y la artritis reumática. El receptor conocido para CCL20 es el

receptor de la quimioquina CC 6 (CCR6). CCL20 es la única quimioquina conocida que interactúa con CCR6. En respuesta a la señal de CCL20, las células inmunes donde se expresa CCR6, tales como las células dendríticas inmaduras (DC), las células T efectoras o de memoria y las células B, migran a los tejidos circundantes y los infiltran, con lo que se activa la cascada inflamatoria.

[0005] Debido a que la expresión de CCL20 se encuentra significativamente incrementada en las inflamaciones que son inducidas por citoquinas inflamatorias, tales como la interleuquina 1β (IL-1β) y el factor de necrosis tumoral α (TNF-α), se cree que la interacción entre CCL20 y CCR6 cumple una función fundamental en los procesos inflamatorios patológicos.

[0006] La artritis reumática (RA) es una de las enfermedades autoinmunes más comunes. El primer signo de la RA frecuentemente es una sinovitis, que se manifiesta en forma de hinchazón y dolor en las articulaciones. Aunque todavía se desconocen los factores específicos que desencadenan la sinovitis, se cree que las células epiteliales que rodean las membranas sinoviales y los fibroblastos sinoviales son los inductores primarios de la reacción inflamatoria. El fluido sinovial de los pacientes que padecen RA actúa como un quimioatractante eficaz de los monocitos y las células T asistentes proinflamatorias 17 (Th17) humanas, que posteriormente inducen y exacerban el proceso inflamatorio de la RA. Debido a que las células reactivas de la membrana sinovial pueden producir grandes cantidades de CCL20 (particularmente bajo la influencia de la IL-1β y el TNFα) y a que CCR6 es el receptor más importante en las células Th17, se cree que la interacción entre CCL20 y CCR6 cumple una función fundamental en el proceso

inflamatorio.

[0007] La interacción entre CCL20 y CCR6 también puede cumplir una función importante en determinados tipos de dermatitis. La psoriasis, por ejemplo, se inicia con un acontecimiento nocivo en la piel (que es inducido por factores ambientales y/o genéticos), que es seguido por la infiltración de células Th17. Debido a que CCR6 se expresa en la superficie de las células Th17, de las células B, de las células dendríticas y de las células T efectoras que pueden dañar los tejidos, CCL20 puede representar el quimioatractante principal para estos tipos de células en la psoriasis. Una evidencia adicional de la importancia de la interacción entre CCL20 y CCR6 puede hallarse en estudios donde se empleó un modelo de psoriasis inducida con interleuquina 23 (IL-23) en ratones (Hedrick *et al.*, *J. Clin. Invest.* 119:2317-2329 (2009)). En este modelo, la inyección de IL-23 provoca una inflamación psoriática que depende de la interleuquina 22 (IL-22). Sin embargo, los ratones *Ccr6*$^{-/-}$ no presentaron síntomas similares a los de la psoriasis cuando se los inyectó con IL-23, lo que refleja que la presencia de CCR6 es necesaria para que se desarrolle la psoriasis.

[0008] Los queratinocitos humanos pueden producir grandes cantidades de CCL20, especialmente bajo la influencia de las citoquinas que derivan de las células Th17, es decir, la interleuquina 17 (IL-17), la IL-22 y el TNF-α. Si bien CCL20 y CCR6 son detectados con poca frecuencia en la piel normal, ambos presentan una expresión incrementada en la dermatitis atópica y en la psoriasis pustular. Puede observarse una inducción fuerte de CCL20 y una acumulación de células CCR6+ cuando se realiza un análisis inmunohistoquímico microscópico en

lesiones de dermatitis humanas. Estas observaciones constituyen una evidencia adicional de la función que cumplen CCL20 y CCR6 en el proceso inflamatorio de la dermatitis.

[0009] Los agentes biológicos basados en anticuerpos monoclonales que están disponibles en la actualidad para tratar los trastornos inmunes pueden clasificarse ampliamente en tres grupos: los inhibidores de las citoquinas de inmunoestimulación (por ejemplo, los anticuerpos monoclonales anti-TNF-α), los agentes que eliminan las células inmunes (por ejemplo, los anticuerpos monoclonales anti-CD20) y los bloqueadores de las moléculas de acceso (por ejemplo, Abatacept). Estos agentes biológicos pueden ser útiles para tratar las enfermedades inflamatorias. Sin embargo, debido a la ausencia de una respuesta primaria o a una declinación gradual en la frecuencia de la respuesta a estos tratamientos, hay una demanda urgente de agentes biológicos alternativos con mecanismos de acción novedosos, por ejemplo, para satisfacer las necesidades médicas de los pacientes que padecen trastornos que están mediados por CCL20 o por CCR6. Los anticuerpos de la presente invención son agentes biológicos alternativos de este tipo.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

[0010] La presente invención se relaciona con anticuerpos anti-CCL20 neutralizadores o con porciones de unión al antígeno de estos. En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20 es un anticuerpo anti-CCL20 humano humanizado, que puede comprender regiones de determinación de la complementariedad (CDR) provenientes de anticuerpos anti-CCL20 humano de

ratón. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20 es un anticuerpo anti-CCL20 humano de ratón o quimérico o una porción de unión al antígeno de este.

[0011] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, se une a CCL20 humano. En algunas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de este, no se une a CCL16 humano.

[0012] Los anticuerpos de la invención se unen específicamente a CCL20. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, se une a CCL20 de mono cangrejero y/o de macaco Rhesus y a CCL20 humano. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, no se une a CCL20 de ratón y/o de rata. En una forma de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, se une a CCL20 humano, de mono cangrejero y de macaco Rhesus, pero no se une a CCL20 de ratón o de rata.

[0013] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una afinidad de unión (K_D) por CCL20 humano que tiene un valor

- menor que 1 nM, 500 pM, 100 pM, 90 pM, 80 M, 70 pM, 60 pM o 50 pM, cuando se la determina usando un ensayo resonancia de plasmón superficial monovalente, o
- menor que 1 nM, 500 pM, 100 pM, 75 pM, 50 pM, 25 pM, 20 pM, 15 pM, 14 pM, 13 pM, 12 pM, 11 pM, 10 pM, 9 pM, 8 pM, 7 pM, 6 pM o 5 pM, cuando se la determina usando un ensayo resonancia de plasmón superficial bivalente.

En determinadas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de este, presenta una afinidad de unión por CCL20 humano que es mayor que la afinidad que presenta por CCR6 humano.

[0014] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una k_a por CCL20 humano que es menor que 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40 o 30 (x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$), según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una k_d por CCL20 humano que es menor que 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 o 3 (x 10^{-5} $segundo^{-1}$), según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente.

[0015] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una k_a por CCL20 de macaco Rhesus que es menor que 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40 o 30 (x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$), según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una k_d por CCL20 de macaco Rhesus que es menor que 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 o 2 (x 10^{-5} $segundo^{-1}$), según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una K_D por CCL20 de macaco Rhesus que es menor que 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 o 10 pM, según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente.

[0016] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una k_a por CCL20 de mono cangrejero que es menor que 500, 400, 300, 200, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40 o 30 (x 10^5 M^{-1} segundo^{-1}), según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una k_d por CCL20 de mono cangrejero que es menor que 50, 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7 o 6 (x 10^{-5} segundo^{-1}), según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta una K_D por CCL20 de mono cangrejero que es menor que 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16 o 15 pM, según la determinación de una resonancia de plasmón superficial bivalente.

[0017] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, se une a CCL20 humano con una EC_{50} que es menor que 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 39, 38, 37, 36, 35 o 34 pM. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, se une a CCL20 de macaco Rhesus con una EC_{50} que es menor que 500, 400, 300, 200, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 90, 80, 70, 65, 60, 59, 58, 57, 56, 55, 54, 53, 52, 51 o 50 pM. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, se une a CCL20 de mono cangrejero con una EC_{50} que es menor que 500, 400, 350, 300, 250, 200, 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 110, 109, 108, 107, 106, 105, 104, 103 o 102 pM.

[0018] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de

unión al antígeno de este, presenta selectividad por CCL20 humano, en comparación con otras quimioquinas humanas, que incluyen, sin limitaciones, CX3CL1, CXCL1, CXCL2, CXCL4, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL12, CXCL13, CXCL16, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL11, CCL13, CCL16, CCL17, CCL19, CCL21, CCL22, CCL24, CCL25, CCL27, CCL28 y/o XCL1. En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, presenta selectividad por CCL20 humano, en comparación con las quimioquinas mejoradas.

[0019] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón con una IC_{50} que es menor que 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,2 o 1,1 nM. En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón con una IC_{50} que es menor que 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,2 o 1,1 nM. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón con una IC_{90} que es menor que 45, 40, 35, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5,5, 5,4, 5,3, 5,2, 5,1, 4,9, 4,8, 4,7 o 4,6 nM. En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón con una IC_{90} que es menor que 6, 5,5, 5,4, 5,3, 5,2, 5,1, 4,9, 4,8, 4,7 o 4,6 nM. En

algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón con una IC_{95} que es menor que 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8 o 7 nM. En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón con una IC_{95} que es menor que 10, 9,9, 9,8, 9,7, 9,6, 9,5, 9,4, 9,3, 9,2, 9,1 o 9 nM.

[0020] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón *in vitro*.

[0021] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano de células CCR6+ humanas o de ratón *in vivo*.

[0022] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, reduce el progreso de los síntomas de la artritis inducida con colágeno (tales como las lesiones en las articulaciones distales de las extremidades, tales como el codo o la rodilla, así como el grado de eritema y de hinchazón) en un sujeto, por ejemplo, en un modelo de artritis inducida con colágeno (CIA) y/o un modelo de artritis inducida con una glucosa-6-fosfato isomerasa (G6PI) en ratones. En algunas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de unión al antígeno de este, reduce las lesiones en los huesos de un sujeto, lo que incluye la osteoporosis, la erosión de los huesos y/o la erosión en los huesos y la formación de huesos nuevos, por ejemplo, en un modelo de CIA.

En algunas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de unión al antígeno de este, reduce los niveles de la proteína oligomérica de la matriz del cartílago (COMP) en el suero de un sujeto, por ejemplo, en un modelo de CIA. En algunas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de unión al antígeno de este, reduce los niveles del ARNm del receptor del activador del factor nuclear inductor de los oesteoclastos κB (RANKL), del receptor del activador del factor nuclear κB (RANK), de la fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP) y/o de la catepsina K en un sujeto, por ejemplo, en las patas de los ratones en un modelo de CIA. En algunas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de unión al antígeno de este, reduce los síntomas de la dermatitis atópica (por ejemplo, la sequedad, la formación de escamas, el eritema, la exudación o la formación de costras y la excoriación) en un sujeto, por ejemplo, los síntomas de la dermatitis atópica inducida con oxazolona en ratones de la cepa NC/Nga. En algunas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de unión al antígeno de este, reduce los síntomas de la dermatitis de contacto alérgica en un sujeto, por ejemplo, los síntomas de la dermatitis de contacto alérgica inducida con dinitrofluorobenceno (DNFB) en un modelo en ratones.

[0023] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena pesada cuya CDR3 (H-CDR3) comprende la secuencia de SEQ ID N.º 67 o 68.

[0024] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena liviana cuya CDR3 (L-CDR3) comprende la secuencia de SEQ ID N.º 75.

[0025] En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una H-CDR3 cuya secuencia comprende SEQ ID N.º 67 y una L-CDR3 cuya secuencia comprende SEQ ID N.º 75, o bien comprende una H-CDR3 cuya secuencia comprende SEQ ID N.º 68 y una L-CDR3 cuya secuencia comprende SEQ ID N.º 75.

[0026] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena pesada cuyas CDR1 (H-CDR1), CDR2 (H-CDR2) y CDR3 (H-CDR3) comprenden las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 60, 63 y 67;
- SEQ ID N.º 60, 64 y 67;
- SEQ ID N.º 61, 65 y 68;
- SEQ ID N.º 77, 79 y 67; o
- SEQ ID N.º 78, 80 y 68.

[0027] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena liviana cuyas CDR1 (L-CDR1), CDR2 (L-CDR2) y CDR3 (L-CDR3) comprenden las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 70, 73 y 75; o
- SEQ ID N.º 71, 73 y 75.

[0028] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende:

una H-CDR1 que comprende una secuencia que se selecciona del grupo

que consiste en SEQ ID N.º 60-62, 77 y 78;

una H-CDR2 que comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 63-66 y 79-81;

una H-CDR3 que comprende la secuencia de SEQ ID N.º 67 o 68;

una L-CDR1 que comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 70-72;

una L-CDR2 que comprende la secuencia de SEQ ID N.º 73 o 74; o

una L-CDR3 que comprende SEQ ID N.º 75;

o cualquier combinación de estas.

[0029] En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una H-CDR1, una H-CDR2, una H-CDR3, una L-CDR1, una L-CDR2 y una L-CDR3 que comprenden las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 60, 63, 67, 70, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 60, 64, 67, 70, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 61, 65, 68, 70, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 77, 79, 67, 70, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 78, 80, 68, 70, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 60, 63, 67, 71, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 60, 64, 67, 71, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 61, 65, 68, 71, 73 y 75;
- SEQ ID N.º 77, 79, 67, 71, 73 y 75; o
- SEQ ID N.º 78, 80, 68, 71, 73 y 75.

[0030] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena pesada que comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 9-14. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena pesada que comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 39, 41 y 43.

[0031] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena liviana que comprende la secuencia de SEQ ID N.º 15 o 16. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena liviana que comprende una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 40, 42 y 44.

[0032] En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena liviana que comprenden las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 9 y SEQ ID N.º 15;
- SEQ ID N.º 10 y SEQ ID N.º 15;
- SEQ ID N.º 11 y SEQ ID N.º 15;
- SEQ ID N.º 12 y SEQ ID N.º 15;
- SEQ ID N.º 13 y SEQ ID N.º 15;
- SEQ ID N.º 14 y SEQ ID N.º 15;

- SEQ ID N.º 9 y SEQ ID N.º 16;
- SEQ ID N.º 10 y SEQ ID N.º 16;
- SEQ ID N.º 11 y SEQ ID N.º 16;
- SEQ ID N.º 12 y SEQ ID N.º 16;
- SEQ ID N.º 13 y SEQ ID N.º 16; o
- SEQ ID N.º 14 y SEQ ID N.º 16.

[0033] En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena liviana que comprenden las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 39 y SEQ ID N.º 40;
- SEQ ID N.º 39 y SEQ ID N.º 42;
- SEQ ID N.º 39 y SEQ ID N.º 44;
- SEQ ID N.º 41 y SEQ ID N.º 40;
- SEQ ID N.º 41 y SEQ ID N.º 42;
- SEQ ID N.º 41 y SEQ ID N.º 44;
- SEQ ID N.º 43 y SEQ ID N.º 40;
- SEQ ID N.º 43 y SEQ ID N.º 42; o
- SEQ ID N.º 43 y SEQ ID N.º 44.

[0034] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena pesada que tiene una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 1-6 y 108, pero sin la secuencia señal (si está presente), y opcionalmente sin la lisina en el

extremo C. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena liviana que tiene la secuencia seleccionada entre el grupo que consiste de SEQ ID N.º 7, 8, 110 y112, pero sin la secuencia señal (si está presente). En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20 comprende una cadena pesada y una cadena liviana que tienen las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 1 y SEQ ID N.º 7;
- SEQ ID N.º 2 y SEQ ID N.º 7;
- SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 7;
- SEQ ID N.º 4 y SEQ ID N.º 7;
- SEQ ID N.º 5 y SEQ ID N.º 7;
- SEQ ID N.º 6 y SEQ ID N.º 7;
- SEQ ID N.º 1 y SEQ ID N.º 8;
- SEQ ID N.º 2 y SEQ ID N.º 8;
- SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 8;
- SEQ ID N.º 4 y SEQ ID N.º 8;
- SEQ ID N.º 5 y SEQ ID N.º 8;
- SEQ ID N.º 6 y SEQ ID N.º 8;
- SEQ ID N.º 108 y SEQ ID N.º 110; o
- SEQ ID N.º 108 y SEQ ID N.º 112;

pero sin la secuencia señal; o bien comprende SEQ ID N.º 1-6 y 108, opcionalmente sin la lisina en el extremo C.

[0035] En la presente invención también se provee un anticuerpo anti-CCL20, o

una porción de unión al antígeno de este, que comprende un dominio variable de la cadena pesada que está codificado por una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 25-30. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena pesada que está codificado por una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 51, 53 y 55.

[0036] Además, en la presente invención se provee un anticuerpo anti-CCL20, o una porción de unión al antígeno de este, que comprende un dominio variable de la cadena liviana que está codificado por la secuencia de SEQ ID N.º 31 o 32. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena liviana que está codificado por una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 52, 54 y 56.

[0037] En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena liviana que están codificados por las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 25 y SEQ ID N.º 31;
- SEQ ID N.º 26 y SEQ ID N.º 31;
- SEQ ID N.º 27 y SEQ ID N.º 31;
- SEQ ID N.º 28 y SEQ ID N.º 31;
- SEQ ID N.º 29 y SEQ ID N.º 31;
- SEQ ID N.º 30 y SEQ ID N.º 31;

- SEQ ID N.º 25 y SEQ ID N.º 32;
- SEQ ID N.º 26 y SEQ ID N.º 32;
- SEQ ID N.º 27 y SEQ ID N.º 32;
- SEQ ID N.º 28 y SEQ ID N.º 32;
- SEQ ID N.º 29 y SEQ ID N.º 32; o
- SEQ ID N.º 30 y SEQ ID N.º 32.

[0038] En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena liviana que están codificados por las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 51 y SEQ ID N.º 52;
- SEQ ID N.º 51 y SEQ ID N.º 54;
- SEQ ID N.º 51 y SEQ ID N.º 56;
- SEQ ID N.º 53 y SEQ ID N.º 52;
- SEQ ID N.º 53 y SEQ ID N.º 54;
- SEQ ID N.º 53 y SEQ ID N.º 56;
- SEQ ID N.º 55 y SEQ ID N.º 52;
- SEQ ID N.º 55 y SEQ ID N.º 54; o
- SEQ ID N.º 55 y SEQ ID N.º 56.

[0039] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena pesada que está codificada por una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 17-22, donde dicha secuencia carece de la porción que codifica la secuencia señal (si

está presente), y opcionalmente carece de la secuencia que codifica la lisina en el extremo C. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, comprende una cadena liviana que está codificada por una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste de SEQ ID N.º 23, 24, 111y 113, donde dicha secuencia carece de la porción que codifica la secuencia señal (si está presente). En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20 comprende una cadena pesada y una cadena liviana que están codificadas por las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 17 y SEQ ID N.º 23;
- SEQ ID N.º 18 y SEQ ID N.º 23;
- SEQ ID N.º 19 y SEQ ID N.º 23;
- SEQ ID N.º 20 y SEQ ID N.º 23;
- SEQ ID N.º 21 y SEQ ID N.º 23;
- SEQ ID N.º 22 y SEQ ID N.º 23;
- SEQ ID N.º 17 y SEQ ID N.º 24;
- SEQ ID N.º 18 y SEQ ID N.º 24;
- SEQ ID N.º 19 y SEQ ID N.º 24;
- SEQ ID N.º 20 y SEQ ID N.º 24;
- SEQ ID N.º 21 y SEQ ID N.º 24;
- SEQ ID N.º 22 y SEQ ID N.º 24;
- SEQ ID N.º 109 y SEQ ID N.º 111; o
- SEQ ID N.º 109 y SEQ ID N.º 113;

donde ambas secuencias carecen de la porción que codifica la secuencia señal (si

está presente), o bien comprende SEQ ID N.º 17-22 y 109, que opcionalmente carece de la secuencia que codifica la lisina en el extremo C.

[0040] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, es un anticuerpo humanizado o quimérico. En algunas formas de realización, las regiones del marco de trabajo de la cadena pesada del anticuerpo anti-CCL20 humanizado, o de una porción de este, comprenden un gen IGHV1-46*03 de la línea germinal humana (véase, por ejemplo, Altschul *et al.*, "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997)). En determinadas formas de realización, las regiones del marco de trabajo de la cadena pesada presentan una homología de al menos 50 % con las regiones del marco de trabajo del gen IGHV1-46*03 de la línea germinal humana. Por ejemplo, las regiones del marco de trabajo de la cadena pesada pueden ser al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, al menos 99 %, o incluso 100 % idénticas a las regiones del marco de trabajo del gen IGHV1-46*03 de la línea germinal humana. En algunas formas de realización, las regiones del marco de trabajo de la cadena liviana del anticuerpo anti-CCL20 humanizado, o de una porción de este, comprenden un gen IGKV1D-39*01 de la línea germinal humana (véase Altschul *et al.*, *supra*). En determinadas formas de realización, las regiones del marco de trabajo de la cadena liviana presentan una homología de al menos 50 % con las regiones del marco de trabajo del gen IGKV1D-39*01 de la línea germinal humana. Por ejemplo, las regiones del marco de trabajo de la cadena liviana pueden ser al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, al menos 99 %, o incluso 100 % idénticas a las regiones del marco de trabajo del gen IGKV1D-39*01 de la línea germinal humana.

[0041] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de

unión al antígeno de este (en la medida en que dicha porción comprenda al menos una parte de una región constante de la cadena pesada), es una molécula de IgG, de IgM, de IgE, de IgA o de IgD. En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de unión al antígeno de este, es del subtipo de la IgG1, de la IgG2, de la IgG3 o de la IgG4.

[0042] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20 es un anticuerpo monoclonal.

[0043] En la presente invención también se provee un anticuerpo anti-CCL20, o una porción de unión al antígeno de este, que se une a un epitope de CCL20 humano que está localizado en el rizo N y/o en la horquilla β2-β3 de las moléculas. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o una porción de este, se une al mismo epitope en CCL20 humano que un anticuerpo como el que se describe en la presente, o una porción de este. Además, en la presente invención se provee un anticuerpo anti-CCL20, o una porción de unión al antígeno de este, que compite o compite de manera transversal por la unión a CCL20 humano con un anticuerpo como el que se describe en la presente, o con una porción de este.

[0044] En algunas formas de realización, el epitope de CCL20 humano al que se une el anticuerpo o la porción de unión al antígeno de este de la invención comprende una o más secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en

- los residuos 7-9 de SEQ ID N.º 84;
- los residuos 10-19 de SEQ ID N.º 84;

- los residuos 20-21 de SEQ ID N.º 84; y
- los residuos 20-22 de SEQ ID N.º 84,

o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84.

[0045] En algunas formas de realización, el epitope de CCL20 humano también comprende una o más secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en

- los residuos 39-55 de SEQ ID N.º 84;
- los residuos 39-57 de SEQ ID N.º 84;
- los residuos 56-67 de SEQ ID N.º 84; y
- los residuos 61-70 de SEQ ID N.º 84,

o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84.

[0046] En determinadas formas de realización, el epitope de CCL20 humano comprende cualquier combinación de las secuencias de aminoácidos que consisten en los residuos 7-9, 10-19, 20-22, 39-55, 56-57 y 61-70 de SEQ ID N.º 84 o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84.

[0047] En determinadas formas de realización, el epitope de CCL20 humano comprende los residuos 7-9, 10-19 y 20-22 de SEQ ID N.º 84 o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84. En determinadas formas de realización, el epitope de CCL20 humano comprende los residuos 7-9, 10-19, 20-22, 39-55, 56-57 y 61-70 de SEQ ID N.º 84

o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84. En determinadas formas de realización, el epitope de CCL20 humano comprende los residuos 7-9, 10-19, 20-22, 39-57 y 61-70 de SEQ ID N.º 84 o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84.

[0048] En determinadas formas de realización, el epitope de CCL20 humano comprende los residuos 7-9, 10-19 y 20-21 de SEQ ID N.º 84 o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84. En determinadas formas de realización, el epitope de CCL20 humano comprende los residuos 7-9, 10-19, 20-21, 39-55, 56-67 y 61-70 de SEQ ID N.º 84 o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84. En determinadas formas de realización, el epitope de CCL20 humano comprende los residuos 7-9, 10-19, 20-21, 39-57 y 61-70 de SEQ ID N.º 84 o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84.

[0049] En algunas formas de realización, el epitope de CCL20 humano al que se une el anticuerpo o la porción de unión al antígeno de este comprende uno o más residuos de aminoácidos de SEQ ID N.º 84 (o los residuos de CCL20 humano salvaje que corresponden a los residuos mencionados de SEQ ID N.º 84) que se seleccionan entre los residuos 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 y 70, o cualquier combinación de estos.

[0050] En la presente invención también se provee una porción de unión al

antígeno de cualquiera de los anticuerpos anti-CCL20 que se describen en la presente. La porción de unión al antígeno puede ser, por ejemplo, un anticuerpo de cadena simple, un fragmento Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$ o Fd, un fragmento Fv de cadena simple (scFv), un dímero biespecífico de fragmentos Fv de cadena simple, un multímero polivalente de fragmentos Fv de cadena simple, un diacuerpo, un anticuerpo del que se ha eliminado un dominio o un anticuerpo con un solo dominio (dAb).

[0051] En la presente invención también se provee una variante de un anticuerpo o de una porción de unión al antígeno como los que se describen en la presente, donde la variante difiere del anticuerpo o de la porción de este en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 sustituciones de aminoácidos.

[0052] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo dirigido contra CCL20 humano, donde el dominio variable de la cadena pesada y el dominio variable de la cadena liviana del anticuerpo comprenden las siguientes secuencias, respectivamente:

- SEQ ID N.º 9 y 15;
- SEQ ID N.º 9 y 16;
- SEQ ID N.º 10 y 16;
- SEQ ID N.º 11 y 15;
- SEQ ID N.º 11 y 16;
- SEQ ID N.º 12 y 16;
- SEQ ID N.º 13 y 16; o
- SEQ ID N.º 14 y 16.

[0053] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 1 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 7, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0054] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 1 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 7, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0055] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 1 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0056] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 1 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0057] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 2 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0058] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 2 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0059] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 3 y cuya cadena liviana comprende SEQ

ID N.º 7, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0060] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 3 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 7, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0061] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 3 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0062] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 3 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0063] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 4 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0064] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 4 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0065] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 5 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0066] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya

cadena pesada comprende SEQ ID N.º 5 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0067] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 6 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0068] En otro aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 6 y carece de la lisina en el extremo C y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal.

[0069] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 110.

[0070] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108, pero sin la lisina en el extremo C, y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 110.

[0071] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 112.

[0072] En un aspecto, en la presente invención se provee un anticuerpo cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108, pero sin la lisina en el extremo C, y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 112.

[0073] En otro aspecto, en la presente invención se proveen una o más moléculas

de ácidos nucleicos, que pueden ser, por ejemplo, moléculas de ácidos nucleicos aisladas, que codifican una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, o una cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, donde la cadena pesada y la cadena liviana, o las porciones de unión al antígeno de estas, pueden asociarse para formar un anticuerpo anti-CCL20, o una porción de unión al antígeno de este. En algunas formas de realización, las moléculas de ácidos nucleicos que codifican la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, comprenden una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 17-22, 25-30 y 109, donde opcionalmente, las secuencias de nucleótidos pueden carecer de la porción que codifica la secuencia señal. Las secuencias de nucleótidos de SEQ ID N.º 17-22 y 109 opcionalmente pueden carecer de la secuencia que codifica la lisina en el extremo C. En algunas formas de realización, las moléculas de ácidos nucleicos que codifican la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, comprenden una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 23, 24, 31, 32, 111 y 113, donde opcionalmente, las secuencias de nucleótidos pueden carecer de la porción que codifica la secuencia señal. En algunas formas de realización, las una o más moléculas de ácidos nucleicos codifican una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, y una cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana provienen de un anticuerpo como los que se describen en la presente, o de una porción de este. En determinadas formas de realización, una de las moléculas de ácidos nucleicos codifica una cadena pesada, o una porción de unión al

antígeno de esta, y una cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta.

[0074] En una forma de realización, las moléculas de ácidos nucleicos que codifican la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, las moléculas de ácidos nucleicos que codifican la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, o las moléculas de ácidos nucleicos que codifican la cadena pesada y la cadena liviana, o las porciones de unión al antígeno de estas, se emplean para tratar un sujeto que lo necesita.

[0075] En otro aspecto, en la presente invención se provee un vector que comprende una o más secuencias de ácidos nucleicos que codifican una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, una cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, o una cadena pesada y una cadena liviana, o porciones de unión al antígeno de estas, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana provienen de un anticuerpo como los que se describen en la presente, o de una porción de este.

[0076] En otro aspecto, en la presente invención se provee una célula donde se expresa una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, una cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, o una cadena pesada y una cadena liviana, o porciones de unión al antígeno de estas, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana provienen de un anticuerpo como los que se describen en la presente, o de una porción de este.

[0077] En otro aspecto, en la presente invención se provee un método para preparar un anticuerpo como los que se describieron con anterioridad, o una

porción de este, que comprende mantener una célula como las que se describen en la presente bajo condiciones apropiadas para expresar el anticuerpo o una porción de este. En algunas formas de realización, el método comprende un paso en el que se aísla el anticuerpo o una porción de este.

[0078] En la presente invención también se provee un método para producir un hibridoma que secreta un anticuerpo anti-CCL20. En determinadas formas de realización, el hibridoma produce un anticuerpo que se une a CCL20 humano salvaje. En la invención también se provee un hibridoma que puede obtenerse con los métodos de la invención. Opcionalmente, el anticuerpo monoclonal que es secretado por el hibridoma se recolecta y puede someterse a una purificación adicional (por ejemplo, puede purificárselo sustancialmente o aislárselo). En otras formas de realización, el método también comprende determinar la secuencia de nucleótidos del anticuerpo monoclonal que es secretado por el hibridoma.

[0079] En otro aspecto, en la presente invención se provee una composición que comprende un anticuerpo como los que se describen en la presente, o una porción de este, y un vehículo o un transporte farmacéuticamente aceptable.

[0080] En un aspecto, el anticuerpo que se describe en la presente, o una porción de este, se usa como medicamento. En determinadas formas de realización, el anticuerpo que se describe en la presente, o una porción de este, se usa para tratar un sujeto que lo necesita. En formas de realización particulares, el anticuerpo, o una porción de este, se usa para tratar una afección asociada a CCR6, una afección asociada a CCL20 o ambas. Estas afecciones incluyen, sin limitaciones, las afecciones inflamatorias o autoinmunes, particularmente la artritis,

especialmente la artritis reumática, la dermatitis atópica o alérgica y la psoriasis. En otra forma de realización particular, el anticuerpo, o una porción de este, se usa para tratar un cáncer. El anticuerpo, o una porción de este, puede usarse para tratar, por ejemplo, la enfermedad de Graves, el vitíligo, el hipertiroidismo, la artritis reumática, la psoriasis, la dermatitis atópica, la dermatitis de contacto, la enfermedad de Crohn, la enfermedad intestinal inflamatoria, las afecciones malignas de las células B, el adenocarcinoma de mama, la hepatitis crónica, el glioblastoma, el carcinoma hepatocelular, las infecciones de papilomavirus humanos en el cuello uterino, las micosis fungoides, el adenocarcinoma pancreático, la enfermedad periodontal, el carcinoma papilar en la tiroides, la pustulosis en las palmas y en las plantas de los pies, las afecciones relacionadas con el exantema maculopapular, la epidermólisis bulbosa, la alopecia areata, la esclerosis múltiple, la polimiositis, la dermatomiositis, la enfermedad de Behcet, la pustulosis exantematosa generalizada aguda, los vasculítidos, la artritis idiopática juvenil, la sarcoidosis, el asma bronquial, la rinitis alérgica, el rechazo de aloinjertos renales, la enfermedad del injerto contra el huésped, el rechazo de aloinjertos hepáticos, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la fibrosis quística, la glomerulonefritis, las infecciones del virus sincicial respiratorio, el mieloma múltiple y/o la histiocitosis en las células de Langerhans.

[0081] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20, o la porción de este, se usa para reducir la quimiotaxis inducida por CCL20 humano en las células CCR6+ de un sujeto que lo necesita.

[0082] En algunas formas de realización, en la presente invención se proveen los

siguientes artículos.

1. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, donde dicho anticuerpo comprende una cadena pesada cuya región de determinación de la complementariedad 3 (CDR3) comprende SEQ ID N.º 67 o 68.

2. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 1, donde la región de determinación de la complementariedad 1 (CDR1), la región de determinación de la complementariedad 2 (CDR2) y la región de determinación de la complementariedad 3 (CDR3) de dicha cadena pesada comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

   a) SEQ ID N.º 60, 64 y 67;

   b) SEQ ID N.º 60, 63 y 67;

   c) SEQ ID N.º 61, 65 y 68;

   d) SEQ ID N.º 77, 79 y 67; y

   e) SEQ ID N.º 78, 80 y 68.

3. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, donde dicho anticuerpo comprende una cadena liviana cuya región de determinación de la complementariedad 3 (CDR3) comprende SEQ ID N.º 75.

4. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 3, donde la región de determinación de la complementariedad 1 (CDR1), la región de determinación de la complementariedad 2 (CDR2) y la

región de determinación de la complementariedad 3 (CDR3) de dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

a) SEQ ID N.º 70, 73 y 75; y

b) SEQ ID N.º 71, 73 y 75.

5. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 1 o 3, donde la cadena pesada de dicho anticuerpo comprende una CDR3 que comprende SEQ ID N.º 67 o 68 y la cadena liviana de dicho anticuerpo comprende una CDR3 que comprende SEQ ID N.º 75.

6. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 2 o 4, donde la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de dicha cadena pesada y la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

a) SEQ ID N.º 60, 64, 67, 70, 73 y 75;

b) SEQ ID N.º 60, 64, 67, 71, 73 y 75;

c) SEQ ID N.º 60, 63, 67, 70, 73 y 75;

d) SEQ ID N.º 60, 63, 67, 71, 73 y 75;

e) SEQ ID N.º 61, 65, 68, 70, 73 y 75;

f) SEQ ID N.º 61, 65, 68, 71, 73 y 75;

g) SEQ ID N.º 77, 79, 67, 70, 73 y 75;

h) SEQ ID N.º 77, 79, 67, 71, 73 y 75;

i) SEQ ID N.º 78, 80, 68, 70, 73 y 75; y

j) SEQ ID N.º 78, 80, 68, 71, 73 y 75.

7. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano o una porción de unión al antígeno de este, donde dicho anticuerpo comprende una cadena pesada cuyo dominio variable comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona entre SEQ ID N.º 9-14.

8. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano o una porción de unión al antígeno de este, donde dicho anticuerpo comprende una cadena liviana cuyo dominio variable comprende SEQ ID N.º 15 o 16.

9. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 7 u 8, donde el dominio variable de la cadena pesada y el dominio variable de la cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

   a) SEQ ID N.º 9 y 15;

   b) SEQ ID N.º 9 y 16;

   c) SEQ ID N.º 10 y 16;

   d) SEQ ID N.º 11 y 15;

   e) SEQ ID N.º 11 y 16;

   f) SEQ ID N.º 12 y 16;

   g) SEQ ID N.º 13 y 16; y

   h) SEQ ID N.º 14 y 16.

10. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano cuya cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 1-6, pero sin la secuencia señal, y SEQ ID N.º 108.

11. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano cuya cadena pesada

comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 1-6, pero sin la secuencia señal, y SEQ ID N.º 108, donde dicha secuencia de aminoácidos carece de la lisina en el extremo C.

12. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano cuya cadena liviana comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 7 y 8, pero sin la secuencia señal, y SEQ ID N.º 110 y 112.

13. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización10-12, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

a) SEQ ID N.º 1 y 7;

b) SEQ ID N.º 1 y 8;

c) SEQ ID N.º 2 y 8;

d) SEQ ID N.º 3 y 7;

e) SEQ ID N.º 3 y 8;

f) SEQ ID N.º 4 y 8;

g) SEQ ID N.º 5 y 8;

h) SEQ ID N.º 6 y 8;

i) SEQ ID N.º 108 y 110; y

j) SEQ ID N.º 108 y 112;

donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal, y donde SEQ ID N.º 1-6 opcionalmente carecen de la lisina en el extremo C.

14. Un anticuerpo monoclonal cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108

y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 110.

15. Un anticuerpo monoclonal cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108, pero sin la lisina en el extremo C, y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 110.

16. Un anticuerpo monoclonal cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 112.

17. Un anticuerpo monoclonal cuya cadena pesada comprende SEQ ID N.º 1, pero sin la secuencia señal y sin la lisina en el extremo C, y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, pero sin la secuencia señal.

18. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, que se une al mismo epitope de CCL20 humano que el anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-17.

19. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, que compite por la unión a CCL20 humano con el anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-17.

20. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, que compite de manera transversal por la unión a CCL20 humano con el anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-17.

21. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-12, donde el anticuerpo es un anticuerpo

humanizado.

22. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-6, donde las regiones del marco de trabajo de dicha cadena pesada comprenden un gen IGHV1-46*03 de la línea germinal humana y donde las regiones del marco de trabajo de dicha cadena liviana comprenden un gen IGKV1D-39*01 de la línea germinal humana.

23. El anticuerpo monoclonal de cualquiera de las formas de realización 1-9 y 18-22, donde dicho anticuerpo comprende un dominio constante de la IgG1, la IgG2, la IgG3 o la IgG4 humana.

24. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, cuya cadena pesada comprende un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 39, 41 y 43.

25. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, cuya cadena liviana comprende un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 40, 42 y 44.

26. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 24 o 25, donde dicha cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 39, 41 y 43 y donde dicha cadena liviana comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 40,

42 y 44.

27. El anticuerpo de la forma de realización 26, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

    a) SEQ ID N.º 39 y 40;

    b) SEQ ID N.º 41 y 42; y

    c) SEQ ID N.º 43 y 44.

28. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, donde dicho anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende SEQ ID N.º 39 y una cadena liviana que comprende SEQ ID N.º 40.

29. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 24-28, donde dicho anticuerpo es un anticuerpo quimérico.

30. La porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-9, 18-22 y 24-28, donde dicha porción es un anticuerpo de cadena simple, un fragmento Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$ o Fd, un fragmento Fv de cadena simple (scFv), un dímero biespecífico de fragmentos Fv de cadena simple, un multímero polivalente de fragmentos Fv de cadena simple, un diacuerpo, un anticuerpo del que se ha eliminado un dominio o un anticuerpo con un solo dominio (dAb).

31. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1-30, donde dicho anticuerpo, o una

porción de unión al antígeno de este, presenta una o más de las siguientes propiedades:

a) no se une a CCL16 humano;

b) se une a CCL20 de mono cangrejero o de macaco Rhesus, pero no a CCL20 de ratón o de rata;

c) presenta una afinidad de unión por CCL20 humano de 70 pM o menos cuando se la determina usando un ensayo de resonancia de plasmón superficial monovalente;

d) presenta una afinidad de unión por CCL20 humano de 12 pM o menos cuando se la determina usando un ensayo de resonancia de plasmón superficial bivalente;

e) presenta una afinidad de unión por CCL20 humano que es mayor que la afinidad que presenta por CCR6 humano;

f) presenta selectividad por CCL20 humano, en comparación con las quimioquinas humanas CX3CL1, CXCL1, CXCL2, CXCL4, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL12, CXCL13, CXCL16, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL11, CCL13, CCL16, CCL17, CCL19, CCL21, CCL22, CCL24, CCL25, CCL27, CCL28 o XCL1;

g) reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano en las células CCR6+ con una IC_{50} de 1,7 nM o menos;

h) reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano en las células CCR6+ *in vivo*;

i) reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano en las células

CCR6+*in vitro*;

j) reduce el progreso de los síntomas de la artritis en un sujeto;

k) reduce la osteoporosis, la erosión de los huesos o la formación de huesos nuevos en un sujeto;

l) reduce los niveles de la proteína oligomérica de la matriz del cartílago (COMP) en el suero de un sujeto;

m) reduce los niveles del ARNm de RANKL, de RANK, de TRAP de la catepsina K en un sujeto;

n) reduce los síntomas de la dermatitis atópica en un sujeto; y

o) reduce los síntomas de la dermatitis de contacto alérgica en un sujeto.

32. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, que se une a un epitope de CCL20 humano que comprende una o más secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en

a) los residuos 7-9 de SEQ ID N.º 84;

b) los residuos 10-19 de SEQ ID N.º 84; y

c) los residuos 20-22 de SEQ ID N.º 84.

33. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 32, donde el epitope comprende los residuos 7-9, 10-19 y 20-22 de SEQ ID N.º 84.

34. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 32, donde el epitope también comprende una o más secuencias

de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en

a) los residuos 39-55 de SEQ ID N.º 84;

b) los residuos 56-67 de SEQ ID N.º 84; y

c) los residuos 61-70 de SEQ ID N.º 84.

35. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de la forma de realización 34, donde el epitope comprende los residuos 7-9, 10-19, 20-22, 39-55, 56-67 y 61-70 de SEQ ID N.º 84.

36. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1-35.

37. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1-35.

38. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, y la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1-35.

39. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, donde dicha molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 17-22, 25-30 y 109, donde opcionalmente, la secuencia de nucleótidos puede carecer de la porción que codifica la secuencia señal.

40. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, donde dicha molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 23, 24, 31, 32, 111 y 113, donde opcionalmente, la secuencia de nucleótidos puede carecer de la porción que codifica la secuencia señal.

41. La molécula de ácido nucleico aislada de la forma de realización 39 o 40, donde dicha molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 17-22, 25-30 y 109 o comprende una secuencia de nucleótidos como las mencionadas, pero sin la porción que codifica la secuencia señal, y donde dicha molécula de ácido nucleico también comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 23, 24, 31, 32 111 y 113 o comprende una secuencia de nucleótidos como las mencionadas, pero sin la porción que codifica la secuencia señal.

42. Uso (1) de una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada o una porción de unión al antígeno de esta, (2) de una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena liviana o una porción de unión al antígeno de esta o (3) de una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada y una cadena liviana, o porciones de unión al antígeno de estas, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana provienen de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1-35, como medicamento.

43. Un vector recombinante que comprende (1) una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, (2) una secuencia de ácido nucleico que codifica, una cadena liviana o una porción de unión al antígeno de esta, o (3) una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada y una cadena liviana, o porciones de unión al antígeno de estas, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana provienen de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1-35.

44. Una célula huésped que comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1-35, donde dicha primera secuencia de ácido nucleico está unida operativamente a un elemento para controlar la expresión, y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de dicho anticuerpo o de dicha porción, donde dicha segunda secuencia de ácido nucleico está unida operativamente a un elemento para controlar la expresión.

45. Un método para elaborar un anticuerpo anti-CCL20 humano o una porción de unión al antígeno de este, que comprende mantener una célula huésped de la forma de realización 44 bajo condiciones apropiadas para expresar el anticuerpo o una porción de este.

46. El método de la forma de realización 45, que también comprende aislar el

anticuerpo o una porción de este.

47. Una composición que comprende un anticuerpo monoclonal o una porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 y un vehículo o un transporte farmacéuticamente aceptable.

48. Un método para tratar un sujeto que lo necesita, que comprende administrarle al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47.

49. Un método para tratar una afección en un sujeto que lo necesita, que comprende administrarle al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47.

50. El método de la forma de realización 49, donde dicha afección es una afección asociada a CCR6.

51. El método de la forma de realización 49, donde dicha afección es una afección autoinmune o inflamatoria.

52. El método de la forma de realización 49, donde dicha afección es la artritis reumática, la psoriasis, la dermatitis atópica, la dermatitis de contacto, la enfermedad de Crohn, la enfermedad intestinal inflamatoria, la enfermedad de Graves, el vitíligo, el hipertiroidismo, la hepatitis crónica, una infección de papilomavirus humanos en el cuello uterino, una micosis fungoide, la osteoporosis o la enfermedad periodontal.

53. Un método para tratar un cáncer, que comprende administrarle a un sujeto

una cantidad eficaz de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47.

54. El método de la forma de realización 53, donde dicho cáncer es una afección maligna de las células B, un adenocarcinoma de mama, un glioblastoma, un carcinoma hepatocelular, un adenocarcinoma pancreático o un carcinoma papilar en la tiroides.

55. Un método para reducir la quimiotaxis mediada por CCL20 de las células CCR6+ en un sujeto que lo necesita, que comprende administrarle al sujeto un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47.

56. Un método para reducir la quimiotaxis mediada por CCL20 en células CCR6+ *in vitro* donde se usa un anticuerpo o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47.

57. Un método para tratar una afección en un sujeto, que comprende administrarle al sujeto un anticuerpo o la porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47, donde dicha afección se selecciona del grupo que consiste en

    a) las articulaciones distales de las extremidades, tales como el codo o la rodilla;

    b) el eritema;

c) la hinchazón;

d) los niveles incrementados de la proteína oligomérica de la matriz del cartílago (COMP) en el suero;

e) los niveles incrementados del ARNm del receptor del activador del factor nuclear inductor de los oesteoclastos κB (RANKL), del receptor del activador del factor nuclear κB (RANK), de la fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP) o de la catepsina K;

f) la dermatitis atópica; y

g) la dermatitis de contacto alérgica.

58. Uso de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47 en la manufactura de un medicamento.

59. Uso de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de cualquiera de las formas de realización 1-35 o la composición de la forma de realización 47 como medicamento.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LOS DIBUJOS

[0083] La figura 1 es un gráfico donde se ilustra que los ratones con deficiencias en CCR6 son menos sensibles a la artritis inducida con colágeno que los ratones salvajes. Los ratones salvajes fueron ratones $CCR6^{+/+}$. Los ratones heterocigotas fueron ratones $CCR6^{+/-}$. Los ratones sometidos a knockout fueron ratones $CCR6^{-/-}$. Véase el ejemplo 1.

[0084] La figura 2 es un gráfico donde se ilustra que los ratones con deficiencias

en CCR6 presentan una infiltración alterada de células T (lo que se ve reflejado en los niveles de CD3) en las lesiones propias de la artritis inducida con colágeno, en comparación con los ratones salvajes. Los datos que se proveen son la media ± el error estándar de la media de un experimento (n = 7 ratones por grupo). *p < 0,05, **p < 0,01. Véase el ejemplo 1.

[0085] La figura 3 es un gráfico donde se ilustra que los ratones con deficiencias en CCR6 presentan una infiltración alterada de macrófagos (lo que se ve reflejado en los niveles de F4/80) en las lesiones propias de la artritis inducida con colágeno, en comparación con los ratones salvajes. Los datos que se proveen son la media ± el error estándar de la media de un experimento (n = 7 ratones por grupo). **p < 0,01. Véase el ejemplo 1.

[0086] La figura 4 es un gráfico donde se ilustra que, en comparación con los ratones salvajes, los ratones con deficiencias en CCR6 son resistentes a la hinchazón de las orejas que se produce en un modelo de dermatitis de contacto alérgica inducida con dinitrofluorobenceno (DNFB). WT representa los ratones salvajes. KO representa los ratones que fueron sometidos a un knockout, que presentaron deficiencias en CCR6. Véase el ejemplo 1.

[0087] La figura 5 es un gráfico donde se ilustra que el anticuerpo monoclonal 2F5-5 inhibe la quimiotaxis inducida por CCL20. Véase el ejemplo 1.

[0088] En las figuras 6A-C se proveen alineamientos de las secuencias de los dominios variables de los anticuerpos de la invención (SEQ ID N.º 9-16) con las secuencias de los dominios variables de los siguientes anticuerpos anti-humanos de ratón: 36F7C10 (VH: SEQ ID N.º 39; VL: SEQ ID N.º 40) y 42G5B10 (VH: SEQ

ID N.º 43), y con las siguientes secuencias de la línea germinal: IGHV1-46*03 (SEQ ID N.º 57), JH4 (SEQ ID N.º 58) e IGKV1D-39*01 (SEQ ID N.º 59). Se proveen las definiciones de Kabat y de Chotia de cada CDR. ABM67212 (SEQ ID N.º 82) y BAH04867.1 (SEQ ID N.º 83) son los anticuerpos humanos de los que se obtuvieron las regiones del marco de trabajo que comprende el anticuerpo humanizado ilustrado. Véase el ejemplo 3.

[0089] Las figuras 7A-C son tablas donde se representa la inhibición de la quimiotaxis *in vitro* provocada por diversas combinaciones de cadenas de anticuerpos anti-CCL20 humano humanizados. Los datos representan tres pruebas, excepto donde se indique lo contrario. Véase el ejemplo 4.

[0090] En las figuras 8A-C se ilustran tres pruebas independientes que se llevaron a cabo para evaluar el efecto de inhibición del anticuerpo anti-CCL20 humano humanizado HC2/LK3. Se demostró que el anticuerpo HC2/LK3 inhibe la quimiotaxis inducida por CCL20. Se proveen los valores de la IC_{50}, de la IC_{90} y de la IC_{95} para cada experimento. Véase el ejemplo 4.

[0091] En las figuras 9A-C se proveen una serie de gráficos donde se ilustra que los anticuerpos humanizados (B) HC2/LK3 y (C) HC2/LC3 ejercen una inhibición de la migración celular dependiente de la dosis que es comparable a la que provoca (A) el anticuerpo de ratón 36F7C10, en un ensayo de migración transendotelial. Véase el ejemplo 4.

[0092] En las figuras 10A y B se ilustran sensogramas Biacore™ donde puede observarse que los anticuerpos humanizados (A) HC2/LC3 y (B) HC2/LK3 se unen a CCL20 humano de una manera que depende de la concentración. Véase el

ejemplo 5.

[0093] En las figuras 11A y D se demuestra que los anticuerpos anti-CCL20 humano se unen específicamente a CCL20 humano. Se usó un ensayo de ELISA con CCL20 y otras quimioquinas unidos a placas (en una concentración de 1 µg/ml) para detectar la unión (A) de 36F7C10 y los anticuerpos quiméricos y (B) de los anticuerpos humanizados HC2LK3 y HC2LC3. En (C), se usó un ensayo de ELISA con CCL20 anclado y marcado con His para detectar la unión. En (D), se llevaron a cabo experimentos Biacore™ para confirmar que los anticuerpos anti-CCL20 humano se unen a CCL20 humano y presentan una unión insignificante con CXCL4. Véase el ejemplo 6.

[0094] En la figura 12 se ilustra un alineamiento entre las secuencias de aminoácidos de una porción de CCL20 con una superposición de 56 residuos (SEQ ID N.º 114) y de CCL16 (SEQ ID N.º 115). Véase el ejemplo 6.

[0095] En las figuras 13A y B se provee una serie de gráficos donde se ilustra que los anticuerpos (A) quiméricos y (B) humanizados anti-CCL20 humano reaccionan de manera específica con CCL20 y no reaccionan con CCL16. Véase el ejemplo 6.

[0096] En la figura 14 se ilustran alineamientos entre las secuencias de aminoácidos de los ortólogos de CCL20 humano (la primera descripción es SEQ ID N.º 85 y la segunda descripción son los residuos 2-96 de SEQ ID N.º 85), de macaco Rhesus (SEQ ID N.º 86), de mono cangrejero (SEQ ID N.º 87) y de ratón (SEQ ID N.º 88). Véase el ejemplo 7.

[0097] La figura 15 es una representación esquemática de la detección de los anticuerpos anti-CCL20 humano en los ensayos de ELISA. Véase el ejemplo 7.

[0098] En las figuras 16A-C se ilustra una serie de gráficos donde se ilustra que los anticuerpos anti-CCL20 humano (A) quiméricos y (B) humanizados se unen de manera efectiva a CCL20 humano, de macaco Rhesus y de mono cangrejero, pero no a CCL20 de ratón. Véase el ejemplo 7.

[0099] En las figuras 17A y B se provee una serie de gráficos donde se ilustra que los anticuerpos anti-CCL20 humano humanizados y quiméricos se unen de manera efectiva a CCL20 humano, de macaco Rhesus y de mono cangrejero, pero no a CCL20 de ratón o de rata. Los anticuerpos (B) humanizados y (A) quiméricos retienen la especificidad de unión por (A) el anticuerpo de ratón 36F7C10 del que derivan. Véase el ejemplo 7.

[0100] En las figuras 18A y B se ilustran los resultados del mapeo de epitopes de CCL20 humano, que se llevó a cabo a través de un intercambio de hidrógeno/deuterio. En este experimento, se empleó una variante de CCL20 humano (SEQ ID N.º 84) de R&D Systems, en la cual el penúltimo de los residuos es D en lugar de N, tal como se ilustra en la secuencia salvaje. En (A), se representa el nivel de deuteración de cada uno de los residuos de CCL20 en cuatro puntos de tiempo (desde la parte superior, 150 segundos, 500 segundos, 1500 segundos y 5000 segundos). En (B), se representa la estructura de CCL20 humano, donde puede observarse un epitope al que se unen los anticuerpos de la invención. Véase el ejemplo 9.

[0101] En la figura 19 se provee un par de gráficos donde se ilustra que las células B300 que fueron transducidas con CCR6 de ratón migran hacia CCL20 de ratón y humano. Véase el ejemplo 10.

[0102] La figura 20 es un gráfico donde se ilustra que los anticuerpos de ratón quiméricos y humanizados anti-CCL20 humano inhiben la migración de las células T de ratón hacia CCL20 humano *in vivo* de una manera que depende de la dosis. Véase el ejemplo 10.

[0103] La figura 21 es un gráfico donde se ilustra que el anticuerpo monoclonal de hámster anti-CCL20 de ratón 2F5-5 reduce los síntomas de la artritis inducida con colágeno en los ratones. Véase el ejemplo 11.

[0104] La figura 22 es una tabla en la que se detallan las calificaciones clínicas de los animales individuales, donde puede observarse que el anticuerpo monoclonal 2F5-5 reduce el progreso de los síntomas de la artritis inducida con colágeno. Véase el ejemplo 11.

[0105] La figura 23 es un gráfico donde se ilustra la calificación del estado de las patas de los ratones, que se determinó por medio de un análisis de rayos X con el anticuerpo monoclonal 2F5-5. Puede observarse que, al emplearse este anticuerpo, se reduce la patología en los huesos propia de la artritis inducida con colágeno. Como control, se empleó IgG. Véase el ejemplo 11.

[0106] En la figura 24 se proveen ejemplos de los análisis de rayos X que se emplearon para determinar la patología en los huesos de las patas de ratones que padecían artritis inducida con colágeno. O: osteoporosis. E: erosión de los huesos. N: formación de huesos nuevos. Véase el ejemplo 11.

[0107] En las figuras 25A-C se ilustran mediciones de un marcador de la destrucción de los cartílagos, la proteína oligomérica de la matriz del cartílago en el suero (COMP), en un modelo de artritis inducida con colágeno en ratones. En

(A), se ilustran los datos con los que se realizó la calibración, donde se empleó COMP como referencia. En el eje. X, se representan las unidades por litro. En el eje Y, se representa la densidad óptica a 450 nm. En (B), se representan los datos de la placa molde y los datos en bruto de los ratones que fueron tratados con una IgG control de hámster o con el anticuerpo monoclonal 2F5-5. En (C), se proveen datos de animales individuales, donde pueden observarse niveles reducidos de COMP en los animales que fueron tratados con el anticuerpo monoclonal 2F5-5, en comparación con los animales que fueron tratados con los anticuerpos control del tipo de la IgG. Véase el ejemplo 11.

[0108] La figura 26 es un gráfico donde se ilustra que el anticuerpo monoclonal 2F5-5 reduce los niveles de COMP en el suero de los ratones. Como IgG control, se empleó un anticuerpo con el mismo isotipo. Como anticuerpo contra CCL20, se empleó el anticuerpo monoclonal 2F5-5. Véase el ejemplo 11.

[0109] Las figuras 27A y B representan un gráfico donde se ilustra que el anticuerpo monoclonal 2F5-5 reduce la expresión del ARNm de los marcadores de los osteoclastos (A) RANKL, RANK y (B) TRAP y la catepsina K. Como IgG control, se empleó un anticuerpo con el mismo isotipo. Como anticuerpo contra CCL20, se empleó el anticuerpo monoclonal 2F5-5. En el eje Y se representan las unidades cuantitativas de la PCR. Véase el ejemplo 11.

[0110] La figura 28 es un gráfico donde se ilustra que el anticuerpo monoclonal 2F5-5 presenta un efecto profiláctico sobre la artritis inducida con glucosa-6-fosfato isomerasa en los ratones. Véase el ejemplo 12.

[0111] La figura 29 es un gráfico donde se ilustra que el anticuerpo monoclonal

2F5-5 suprime el progreso de la dermatitis atópica inducida con oxazolona en los ratones. Véase el ejemplo 13.

[0112] La figura 30 es un gráfico donde se ilustra que el anticuerpo monoclonal 2F5-5 inhibe la dermatitis de contacto alérgica inducida con dinitrofluorobenceno (lo cual puede determinarse sobre la base del grosor de las orejas) en los ratones. Véase el ejemplo 14.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

[0113] Esta invención se relaciona con anticuerpos que se unen específicamente a CCL20 o a una porción de este (por ejemplo, una porción antigénica de este). la invención también se relaciona con porciones de unión al antígeno de dichos anticuerpos. En una forma de realización, los anticuerpos neutralizan una o más actividades de CCL20. Se dice que un anticuerpo se une específicamente a CCL20 si no se une sustancialmente a una molécula diferente de CCL20. La unión sustancial es, por ejemplo, la unión con una K_D menor o igual que 100 nM, preferiblemente menor o igual que 10 nM, 1 nM, 100 pM, 50 pM, 40 pM o 35 pM, puede determinarse con un análisis Biacore™ (en formato bivalente). En una forma de realización, los anticuerpos o las porciones de estos se unen específicamente a CCL20 humano o a una porción de este, así como a algunas variantes de secuencia de CCL20 humano, por ejemplo, variantes alélicas, y también pueden presentar una reacción transversal con CCL20 de otras especies. En una forma de realización, los anticuerpos o las porciones de estos presentan especificidad de unión por CCL20 humano, el cual puede ser natural, endógeno

y/o salvaje. A menos que se indique lo contrario, "CCL20 humano" hace referencia a CCL20 humano salvaje. La secuencia de aminoácidos de CCL20 humano salvaje, incluyendo la secuencia señal, se ilustra en la figura 14 (SEQ ID N.º 85). La secuencia de aminoácidos de CCL20 humano salvaje sin la secuencia señal (los residuos 1-26 de SEQ ID N.º 85) puede hallarse en SEQ ID N.º 99 (tabla 18). En la figura 18 se ilustra una variante de CCL20 humano, pero sin la secuencia señal (SEQ ID N.º 84), en la cual el penúltimo de los residuos es D en lugar de N, según se ilustra en la secuencia salvaje (SEQ ID N.º 85). En algunas formas de realización, los anticuerpos, o las porciones de estos, se unen a CCL20 humano salvaje o a un CCL20 humano en el que el penúltimo de los residuos es D en lugar de N, según se ilustra en la secuencia salvaje o en la secuencia salvaje sin la secuencia señal (SEQ ID N.º 84, 85 o 99). En una forma de realización particular, los anticuerpos o las porciones de estos se unen a específicamente CCL20 humano, de macaco Rhesus y de mono cangrejero, pero no se unen a CCL20 de ratón o de rata.

[0114] Los anticuerpos que se describen en la presente, y las porciones de unión al antígeno de estos, pueden purificarse y/o aislarse usando técnicas conocidas. Los anticuerpos o las porciones que se "purifican" o se "aíslan" han sido separados de otras moléculas (por ejemplo, péptidos) que normalmente están presentes en la fuente de la que se los obtiene (por ejemplo, el sobrenadante de las células en una mezcla, que puede ser una mezcla de anticuerpos de una biblioteca u otro tipo de mezcla), y abarcan los anticuerpos que se obtienen con los métodos que se describen en la presente o con otros métodos apropiados. Los

anticuerpos aislados incluyen los anticuerpos sustancialmente puros (por ejemplo, esencialmente puros), así como los anticuerpos que se producen a través de una síntesis química, con técnicas recombinantes o con combinaciones de estas.

[0115] Más específicamente, la invención se relaciona con anticuerpos anti-CCL20 humano, con porciones de unión al antígeno de estos anticuerpos (que pueden denominarse simplemente "porciones"), con las cadenas livianas de estos anticuerpos, con las cadenas pesadas de estos anticuerpos y con porciones de estas cadenas livianas o de estas cadenas pesadas. la invención también se relaciona con anticuerpos que carecen de las secuencias señal en la cadena pesada y/o en la cadena liviana y con anticuerpos glucosilados. la invención también se relaciona con anticuerpos precursores, con anticuerpos no glucosilados y con anticuerpos cuyas cadenas pesadas y/o livianas comprenden las secuencias señal. la invención también se relaciona con moléculas de ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las cadenas pesadas o las cadenas livianas de los anticuerpos que se describen en la presente, o porciones de estas, con vectores y células huésped que comprenden dichos ácidos nucleicos, con métodos para producir cualquiera de las cadenas pesadas o las cadenas livianas de los anticuerpos que se describen en la presente, o porciones de estas, y con métodos para usar los anticuerpos.

[0116] Los anticuerpos de esta invención, y las porciones de unión al antígeno de estos, pueden usarse para tratar un sujeto que lo necesita (por ejemplo, un paciente humano), con el propósito de reducir la unión de CCL20 a CCR6, la inflamación mediada por CCL20 y/o la quimiotaxis de las células CCR6+ mediada

por CCL20, según sea necesario.

[0117] Los anticuerpos de la invención incluyen los anticuerpos tradicionales, que comprenden dos cadenas pesadas y dos cadenas livianas. En algunas formas de realización, una o más de las cadenas pesadas y/o livianas comprenden un dominio variable (que también se conoce en la presente como una "región variable") y un dominio constante (que también se conoce en la presente como una "región constante"). Cuando están presentes, los dominios variables completos comprenden cuatro regiones del marco de trabajo (FR) y tres regiones de determinación de la complementariedad (CDR), que están dispuestas en el siguiente orden, desde el extremo amino: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Puede llevarse a cabo una inspección visual y un análisis de la secuencia para identificar los límites de las CDR. En el caso de esta invención, las secuencias de las CDR se definen usando el sistema de Kabat (Kabat, E.A. *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, quinta edición, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE. UU., Oficina de Impresión del Gobierno de los EE. UU. (1991)) y/o el sistema de Chotia (Chotia y Lesk, *Canonical Structures for the Hypervariable Regions of Immunoglobulins*, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)), tal como se ilustra, por ejemplo, en la figura 6.

[0118] Las formas de realización de la presente invención donde hay una región constante de una cadena pesada humana pueden abarcar una región constante humana de cualquier isotipo, por ejemplo, la IgG, la IgM, la IgA, la IgD y la IgE, donde las cadenas pesadas son cadenas de los tipos gamma (γ), mu (μ), alfa (α), delta (δ) o épsilon (ε), respectivamente, así como cualquier subclase, por ejemplo,

la IgG1, la IgG2, la IgG3, la IgG4, la IgA1 y la IgA2, donde las cadenas pesadas son del tipo γ1, γ2, γ3, γ4, α1 o α2, respectivamente. Las formas de realización donde hay una cadena liviana humana pueden abarcar una cadena liviana kappa (κ) o a lambda (λ) humana.

[0119] Tal como se lo emplea en la presente, el término "anticuerpo" hace referencia a un anticuerpo completo (que comprende dos cadenas pesadas completas y dos cadenas livianas completas). El término "fragmento de unión al antígeno" se usa indistintamente en la presente con el término "porción de unión al antígeno", a menos que se indique lo contrario. Las porciones de unión al antígeno de los anticuerpos pueden ser, por ejemplo, un anticuerpo de cadena simple, un fragmento Fv, un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento $F(ab')_2$, un fragmento Fd, un fragmento Fv de cadena simple (scFv), un dímero biespecífico de fragmentos Fv de cadena simple (PCT/US92/09665), un diacuerpo, un anticuerpo del que se ha eliminado un dominio o un anticuerpo con un solo dominio (dAb). Véase, por ejemplo, Jespers *et al.*, *Nature Biotechnology* 22(9):1161-1165 (2004)). Dentro del alcance de la invención también se incluyen las moléculas de unión al antígeno que comprenden una VH y/o una VL. En el caso en que haya una VH, las moléculas también podrán comprender una o más de las siguientes regiones: CH1, la bisagra, CH2 y CH3.

[0120] Las porciones de los anticuerpos pueden producirse realizando cortes con enzimas o empleando técnicas recombinantes. Por ejemplo, puede recurrirse a un corte con papaína o con pepsina para generar fragmentos Fab o $F(ab')_2$, respectivamente. Los anticuerpos también pueden producirse en una variedad de

formas truncadas, usando genes de anticuerpos donde se han introducido uno o más codones de terminación hacia el extremo 5' del sitio de terminación natural. Por ejemplo, es posible diseñar una construcción recombinante que codifique la cadena pesada de un fragmento $F(ab')_2$, de manera tal que incluya secuencias de ADN que codifiquen el dominio CH_1 y la región de la bisagra de la cadena pesada..

[0121] En otra forma de realización, podrá elaborarse un anticuerpo de fusión o una inmunoadhesina que comprenda la totalidad un anticuerpo anti-CCL20 de la invención, o una porción de este, unido a otro polipéptido. En una forma de realización, solamente se unen los dominios variables del anticuerpo anti-CCL20 al polipéptido. En otra forma de realización, el dominio V_H de un anticuerpo anti-CCL20 se une a un primer polipéptido, mientras que el dominio V_L del anticuerpo anti-CCL20 se une a un segundo polipéptido, el cual se asocia al primer polipéptido de un modo tal que los dominios V_H y V_L pueden interactuar para formar un sitio de unión al antígeno. En aun otra forma de realización, el dominio V_H queda separado del dominio V_L por un conector, de manera tal que los dominios V_H y V_L pueden interactuar (véase la sección de los anticuerpos de cadena simple más adelante). Después, el anticuerpo que comprende el dominio V_H, el conector y el dominio V_L se une al polipéptido de interés. Además, es posible crear anticuerpos de fusión donde haya dos (o más) anticuerpos de cadena simple unidos, con lo que se formarán anticuerpos divalentes o polivalentes en una sola cadena polipeptídica, o bien se formarán anticuerpos biespecíficos.

[0122] Para crear un anticuerpo de cadena simple de la invención, los fragmentos de ADN que codifican los dominios V_H y V_L se unen operativamente a otro fragmento que codifica un conector flexible, por ejemplo, a un fragmento que codifica la secuencia de aminoácidos $(Gly_4\text{-}Ser)_3$ (SEQ ID N.º 116), de modo tal que los dominios V_H y V_L pueden expresarse como una proteína continua de una sola cadena, donde están unidos por el conector flexible. Véanse, por ejemplo, Bird *et al.*, *Science* 242:423-426 (1988); Huston *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883 (1988); McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-554 (1990); etcétera. En algunas formas de realización, el anticuerpo de cadena simple es un anticuerpo monovalente (cuando solamente se usa un dominio V_H y un dominio V_L), bivalente (cuando se usan dos dominios V_H y dos dominios V_L) o polivalente (cuando se usan más de dos dominios V_H y más de dos dominios V_L). la invención también abarca los anticuerpos biespecíficos o polivalentes que se unen específicamente a CCL20 humano y a otras moléculas.

[0123] En otras formas de realización, pueden prepararse otros anticuerpos modificados usando moléculas de ácidos nucleicos que codifican anticuerpos anti-CCL20. Por ejemplo, pueden prepararse "cuerpos kappa" (Ill *et al.*, *Protein Eng.* 10:949-57 (1997)), "minicuerpos" (Martin *et al.*, *EMBO J.* 13:5303-9 (1994)), "diacuerpos" (Holliger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993)) o "janusinas" (Traunecker *et al.*, *EMBO J.* 10:3655-3659 (1991); y Traunecker *et al.*, *Int. J. Cancer* (supl.) 7:51-52 (1992)) usando técnicas convencionales de biología molecular, de acuerdo con las enseñanzas que se proveen en esta memoria descriptiva.

[0124] En otro aspecto, en la invención se provee una variante de un anticuerpo

como los que se describen a modo de ejemplo en la presente, o una porción de unión al antígeno de dicha variante de un anticuerpo, donde la variante del anticuerpo se une a CCL20 humano de manera específica, pero tiene una secuencia que difiere de la de los anticuerpos que se describen a modo de ejemplo en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más sustituciones de aminoácidos (que pueden hallarse, por ejemplo, en una región CDR, en una región FR y/o en un dominio constante). De acuerdo con la invención, la variante del anticuerpo puede ser al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica al anticuerpo de referencia en la cadena pesada, en el dominio variable de la cadena pesada, en la cadena liviana, en el dominio variable de la cadena liviana, en las seis CDR o en las ocho FR.

[0125] Tal como se la emplea en la presente, la similitud entre las secuencias de los polipéptidos, que también se conoce como identidad de secuencia, típicamente se mide usando un software con el cual pueden analizarse las secuencias, donde se hacen coincidir secuencias similares usando medidas de la similitud que se asignan a diversas sustituciones, supresiones y modificaciones de otro tipo, que incluyen las sustituciones de aminoácidos conservativas. Por ejemplo, el conjunto de software para analizar las secuencias de Genetics Computer Group (GCG) contiene programas como "Gap" y "Bestfit", que pueden emplearse con los parámetros por omisión para determinar la homología o la identidad entre las secuencias de dos polipéptidos relacionados estrechamente, por ejemplo, entre polipéptidos homólogos provenientes de organismos de distintas especies, o bien entre una proteína salvaje y una muteína. Véase, por ejemplo, GCG, versión 6.1. Las secuencias de los polipéptidos también pueden compararse con FASTA, un

programa en GCG, versión 6.1, con los parámetros por omisión o recomendados. FASTA (por ejemplo, FASTA2 y FASTA3) provee los alineamientos y el porcentaje de identidad de secuencia entre las regiones que mejor se superponen entre las secuencias analizadas y comparativas (Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98 (1990); Pearson, Methods Mol. Biol. 132:185-219 (2000)). Otro algoritmo que se usa cuando se compara una secuencia de la invención con una base de datos que contiene una gran cantidad de secuencias de diversos organismos es el programa informático BLAST, especialmente blastp o tblastn, con los parámetros por omisión. Véanse, por ejemplo, Altschul *et al.*, J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990); Altschul *et al.*, Ácidos nucleicos Res. 25:3389-402 (1997); que se incorporan en la presente a modo de referencia.

[0126] De acuerdo con la invención, una o más de las cisteínas en el anticuerpo pueden ser químicamente reactivas, por lo que pueden cambiarse por otros residuos, tales como, sin limitaciones, alanina o serina. En una forma de realización, se sustituye una cisteína no canónica. La sustitución puede realizarse en una CDR o una región del marco de trabajo de un dominio variable o un dominio constante de un anticuerpo. En algunas formas de realización, la cisteína es canónica. En algunas formas de realización, se eliminan los sitios de proteólisis potenciales en el anticuerpo. Estos sitios pueden hallarse en una CDR o una región del marco de trabajo de un dominio variable o un dominio constante de un anticuerpo. Mediante la sustitución de los residuos de cisteína y la remoción de los sitios de proteólisis, puede reducirse el riesgo de heterogeneidad en el anticuerpo producido, con lo que puede incrementarse su homogeneidad. En algunas formas

de realización, se eliminan los pares de asparragina y glicina, que pueden formar sitios de desamidación, mediante la alteración de uno de estos residuos o de ambos. En algunas formas de realización, el anticuerpo se desinmuniza para reducir su inmunogenicidad. Los procedimientos para reducir la inmunogenicidad de un anticuerpo son bien conocidos en la técnica. Véanse, por ejemplo, las Publicaciones PCT n.º WO98/52976 y WO00/34317.

[0127] En algunas formas de realización, el anticuerpo presenta una o más sustituciones de aminoácidos conservativas, en comparación con uno de los anticuerpos que se describen a modo de ejemplo en la invención. Una "sustitución conservativa de un aminoácido" es una donde se reemplaza un residuo de aminoácido por otro residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral (un grupo R) con propiedades químicas similares (por ejemplo, la carga o la hidrofobicidad). En general, una sustitución conservativa de un aminoácido no altera sustancialmente las propiedades funcionales de una proteína. En aquellos casos donde dos o más secuencias de aminoácidos difieren en sustituciones conservativas, el porcentaje de identidad de secuencia o el grado de similitud pueden ajustarse con un incremento debido a la naturaleza conservativa de la sustitución. Los medios para realizar este ajuste han de resultar bien conocidos para aquellos versados en la técnica. Véase, por ejemplo, Pearson, Methods Mol. Biol. 243:307-31 (1994).

[0128] Los ejemplos de grupos de aminoácidos que tienen cadenas laterales con propiedades químicas similares incluyen 1) los aminoácidos con cadenas laterales alifáticas: la glicina, la alanina, la valina, la leucina y la isoleucina; 2) los

aminoácidos con cadenas laterales alifáticas con grupos hidroxilo: la serina y la treonina; 3) los aminoácidos con cadenas laterales que contienen amidas: la asparragina y la glutamina; 4) los aminoácidos con cadenas laterales aromáticas: la fenilalanina, la tirosina y el triptofano; 5) los aminoácidos con cadenas laterales básicas: la lisina, la arginina y la histidina; 6) los aminoácidos con cadenas laterales ácidas: el ácido aspártico y el ácido glutámico; y 7) los aminoácidos con cadenas laterales que contienen azufre: la cisteína y la metionina. Los grupos preferidos para realizar sustituciones de aminoácidos conservativas incluyen la valina, la leucina y la isoleucina; la fenilalanina y la tirosina; la lisina y la arginina; la alanina y la valina; el glutamato y el aspartato; y la asparragina y la glutamina. Como alternativa, un reemplazo conservativo hace referencia a cualquier cambio que tiene un valor positivo en la matriz de probabilidad logarítmica PAM250, que se describe en Gonnet *et al.*, *Science* 256:1443-45 (1992). Un reemplazo "moderadamente conservativo" hace referencia a cualquier cambio que tiene un valor no negativo en la matriz de probabilidad logarítmica PAM250.

[0129] En determinadas formas de realización, las sustituciones de aminoácidos en un anticuerpo de la invención, o en una porción de unión al antígeno de este, tienen cualquiera de los siguientes resultados: (1) reducen la susceptibilidad a la proteólisis, (2) reducen la susceptibilidad a la oxidación, (3) alteran la afinidad de unión, en el contexto de la formación de complejos proteicos, por ejemplo, para mejorar la actividad de ADCC y CDC de los anticuerpos, (4) les confieren otras propiedades fisicoquímicas o funcionales a estos análogos, o bien modifican las propiedades mencionadas, sin que se altere la unión específica a CCL20 humano,

(5) eliminan la lisina en el extremo C o (6) agregan o eliminan sitios de glucosilación.

[0130] En un aspecto, en la invención se provee un polipéptido novedoso que comprende la cadena pesada o liviana de un anticuerpo de esta invención, o bien una porción que contiene un dominio variable de la cadena pesada o de la cadena liviana. Este polipéptido es útil porque puede asociarse a la cadena liviana o pesada de otro anticuerpo, respectivamente, para formar un anticuerpo anti-CCL20.

[0131] En la presente se describen anticuerpos humanizados novedosos que neutralizan CCL20 y que comprenden las CDR de un anticuerpo anti-CCL20 humano de ratón novedoso, así como porciones de unión al antígeno de dichos anticuerpos humanizados. El término "anticuerpo anti-CCL20 humanizado", tal como se lo emplea en la presente, hace referencia a un anticuerpo que comprende una o más CDR (la CDR1, la CDR2 y la CDR3) de un anticuerpo anti-CCL20 de origen no humano, que también se conoce en la presente como el anticuerpo donante (que por ejemplo, puede ser un anticuerpo anti-CCL20 de ratón), y al menos una porción de una secuencia humana. La porción humana del anticuerpo puede abarcar una o más regiones del marco de trabajo (por ejemplo, todas las regiones del marco de trabajo) y/o una parte de una región constante. En algunas formas de realización, la secuencia de la región del marco de trabajo humana comprende una secuencia de la línea germinal, pero también puede incluir mutaciones que están ausentes en la línea germinal. Un anticuerpo anti-CCL20 que comprende las seis CDR de un anticuerpo anti-CCL20 no humano

injertadas en un marco de trabajo humano es un ejemplo de un anticuerpo anti-CCL20 humanizado de la invención. Véanse, por ejemplo, Cabilly *et al.*, Patente de los EE. UU. n.º 4816567; Cabilly *et al.*, Patente Europea n.º 0 125 023 B1; Boss *et al.*, Patente de los EE. UU. n.º 4816397; Boss *et al.*, Patente Europea n.º 0 120 694 B1; Neuberger, M.S. *et al.*, WO 86/01533; Neuberger, M.S. *et al.*, Patente Europea n.º 0 194 276 B1; Winter, Patente de los EE. UU. n.º 5225539; Winter, Patente Europea n.º 0 239 400 B1; Padlan, E.A. *et al.*, Solicitud de Patente Europea n.º 0 519 596 A1. Véanse también Ladner *et al.*, Patente de los EE. UU. n.º 4946778; Huston, Patente de los EE. UU. n.º 5476786; y Bird *et al.*, *Science* 242:423-426 (1988). En algunas formas de realización, Los anticuerpos humanizados son anticuerpos desinmunizados. Por ejemplo, en Carr *et al.*, Patente de los EE. UU. n.º 7264806, puede hallarse la descripción de anticuerpos desinmunizados que han sido modificados para reducir la cantidad de epitopes potenciales para las células T, con lo que se reduce la probabilidad de que los anticuerpos provoquen una respuesta inmune cuando se los administre a un ser humano.

[0132] En formas de realización particulares, el anticuerpo humanizado comprende una o más CDR de la cadena liviana y/o una o más CDR de la cadena pesada de uno o más de los siguientes anticuerpos monoclonales anti-CCL20 humano murinos: 36F7C10, 42G5B10 y 40-1C10B9, donde las CDR se identifican de acuerdo con el sistema Kabat, el sistema de Chotia o cualquier combinación de estos. En algunas formas de realización, el anticuerpo humanizado comprende las tres CDR de la cadena pesada y las tres CDR de la cadena liviana del anticuerpo

36F7C10, 42G5B10 o 40-1C10B9.

[0133] En otra forma de realización, los anticuerpos humanizados presentan la especificidad de unión de un anticuerpo anti-CCL20 humano murino de la invención (por ejemplo, presentan especificidad por un epitope idéntico o similar en CCL20 humano) y/o presentan actividad de neutralización. Los anticuerpos humanizados pueden presentar la especificidad de unión, la especificidad por los epitopes y/o la actividad de neutralización de un anticuerpo anti-CCL20 humano murino, quimérico o humanizado como los que se describen en la presente. Por ejemplo, un anticuerpo humanizado de la invención puede competir con un anticuerpo anti-CCL20 humano murino, quimérico o humanizado por la unión a CCL20 humano, y/o puede presentar la función de neutralización de un anticuerpo anti-CCL20 humano murino, quimérico o humanizado. En una forma de realización particular, el anticuerpo humanizado presenta la especificidad de unión, la especificidad por los epitopes y/o la actividad de neutralización de cualquiera de los siguientes anticuerpos de ratón: 36F7C10, 42G5B10 y 40-1C10B9.

[0134] La porción de la secuencia humana del anticuerpo humanizado (por ejemplo, la región del marco de trabajo, la región constante) puede provenir de cualquier anticuerpo humano apropiado. Por ejemplo, la región constante humana en un anticuerpo humanizado o quimérico, o una porción de esta, puede estar codificada por el gen de una cadena liviana κ o λ humana y/o por el gen de una cadena pesada γ (por ejemplo, γ1, γ2, γ3, γ4), μ, α (por ejemplo, α1, α2), δ o ε humana, incluyendo las variantes alélicas. El isotipo particular de la región constante humana (por ejemplo, IgG1, IgG2) o de la variante o la porción de esta

puede seleccionarse con el objeto de obtener una función efectora deseada. Por ejemplo, puede incorporarse una región constante mutada (es decir, una variante) en el anticuerpo para reducir la unión a un receptor Fc y/o la probabilidad de fijar el complemento (véanse, por ejemplo, Winter *et al.*, GB 2209757 B; Morrison *et al.*, WO 89/07142; Morgan *et al.*, WO 94/29351).

[0135] Tal como se lo emplea en la presente, el término "línea germinal" hace referencia a las secuencias de nucleótidos de los genes de los anticuerpos, a las secuencias de aminoácidos que codifican y a sus segmentos, en la forma en que son transmitidas desde los progenitores hasta la progenie, a través de las células germinales. La secuencia de la línea germinal es diferente de las secuencias de nucleótidos que codifican los diversos anticuerpos en las células B, ya que estas han sido alteradas por acontecimientos de recombinación e hipermutación durante la maduración por afinidad. Un anticuerpo que "usa" una línea germinal particular tiene una secuencia de nucleótidos o de aminoácidos que es más cercana a la secuencia de nucleótidos o la secuencia de aminoácidos de la línea germinal en cuestión, en comparación con otras líneas germinales. Estos anticuerpos pueden estar codificados por una secuencia que presenta pocas mutaciones con relación a la secuencia de la línea germinal, o bien pueden comprender dicha secuencia.

[0136] En algunas formas de realización, el marco de trabajo humano presenta una variación mínima en comparación con la secuencia de la línea germinal, por ejemplo, presenta reemplazos en menos de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 residuos aceptores para mejorar una o más propiedades del anticuerpo. En algunas formas de realización, los residuos aceptores del marco de trabajo se reemplazan por

residuos donantes, por ejemplo, para mejorar la afinidad de unión (véase, por ejemplo, Queen *et al.*, Patente de los EE. UU. n.º 5530101). En una forma de realización particular, se selecciona una cantidad limitada de aminoácidos en el marco de trabajo de una cadena de un anticuerpo humanizado (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos) para que sean idénticos a los aminoácidos que se encuentran en las mismas posiciones en la secuencia donante (es decir, se realiza una "retromutación"), y no a los aminoácidos en la secuencia aceptora, con el propósito de incrementar la afinidad de un anticuerpo que comprenda la cadena humanizada por CCL20 humano.

[0137] Las regiones del marco de trabajo humano (que por ejemplo, pueden ser regiones variables de las cadenas pesadas y/o livianas) preferiblemente se obtienen o derivan de una secuencia de la línea germinal humana que es similar a la porción análoga o equivalente (que por ejemplo, puede ser la región variable de la cadena pesada o liviana) de la región de unión al antígeno del anticuerpo donante (que por ejemplo, puede ser un anticuerpo anti-CCL20 murino). Otras fuentes de regiones del marco de trabajo apropiadas para las porciones humanas de la secuencia de un anticuerpo humanizado incluyen las secuencias consenso de la región variable humana (véanse, por ejemplo, Kettleborough *et al.*, *Protein Engineering* 4:773-783 (1991); Carter *et al.*, WO 94/04679; Carter, Patente de los EE. UU. n.º 6407213). Por ejemplo, la región de la secuencia donante del anticuerpo (por ejemplo, la secuencia de la región variable) que se emplea para obtener la porción no humana puede compararse con las secuencias humanas como se describe en Kabat, E. A. *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological*

Interest, quinta edición, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE. UU., Oficina de Impresión del Gobierno de los EE. UU. (1991), para seleccionar una fuente particular de porciones humanas para el anticuerpo humanizado, por ejemplo, una fuente de regiones del marco de trabajo.

[0138] En una forma de realización, las regiones del marco de trabajo de las cadenas del anticuerpo humanizado se obtienen o derivan de una región variable de una Ig humana que presenta al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 55 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 65 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 % de identidad de secuencia general con la región variable del anticuerpo donante no humano. En una forma de realización particular, las regiones del marco de trabajo de las cadenas del anticuerpo humanizado se obtienen o derivan de una región variable de una Ig humana que presenta al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 55 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 65 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 % de identidad de secuencia general con las regiones del marco de trabajo de la región variable del anticuerpo donante no humano.

[0139] En una forma de realización, al menos una de las regiones del marco de trabajo (FR) del anticuerpo humanizado se obtiene o deriva de una o más cadenas de una secuencia humana. Por consiguiente, las FR pueden incluir una FR1, una FR2, una FR3 y/o una FR4 que se obtiene o deriva de uno o más anticuerpos

humanos (por ejemplo, de una cadena de un anticuerpo humano o de una secuencia consenso humana).

[0140] Aquellos versados en la técnica han de apreciar que, en algunos casos, los residuos que rodean las una o más CDR de los anticuerpos anti-CCL20 murinos pueden contribuir directa o indirectamente a la función (por ejemplo, la unión) o pueden ser esenciales para la función. Por consiguiente, en algunas formas de realización, en el anticuerpo humanizado también se incluyen uno o más de los aminoácidos que rodean una o más de las CDR del marco de trabajo murino (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más de los aminoácidos circundantes).

[0141] En algunas formas de realización, las regiones del marco de trabajo de la cadena pesada humana de los anticuerpos humanizados de esta invención comprenden una secuencia IGHV1-46*03 de la línea germinal humana. En algunas formas de realización, las regiones del marco de trabajo de la cadena liviana humana de los anticuerpos humanizados de esta invención comprenden una secuencia IGKV1D-39*01 de la línea germinal humana. Opcionalmente, puede haber mutaciones (por ejemplo, retromutaciones) en uno o más de los residuos de estas regiones FR, tal como se describe en la sección de ejemplos más adelante, con el propósito de mejorar la afinidad de unión por CCL20 del anticuerpo humanizado.

[0142] El término "afinidad" es conocido en la técnica y hace referencia a la fuerza que presenta una interacción de unión. Típicamente, hace referencia a la fuerza general que presenta la unión entre el anticuerpo y el antígeno. La afinidad que presenta el anticuerpo por el antígeno típicamente se expresa como la constante

de la afinidad de unión en el equilibrio (K_D), que se aplica a la interacción entre un anticuerpo y un antígeno en particular.

[0143] En algunas formas de realización, el anticuerpo se une a CCL20 humano con una afinidad (K_D; K_D = K_{off} (kd)/Kon (ka)) de 500 pM o menos, 400 pM o menos, 300 pM o menos, 200 pM o menos, 100 pM o menos, 90 pM o menos, 80 pM o menos, 70 pM o menos, 60 pM o menos, 50 pM o menos o 45 pM o menos, lo cual puede determinarse con una resonancia de plasmón superficial monovalente; o de 12 pM o menos, de 10 pM o menos, de 8 pM o menos, de 6 pM o menos o de 5 pM o menos, cuando se la determina con una resonancia de plasmón superficial bivalente. En algunas formas de realización, el anticuerpo se une a CCL20 humano con una k_a de 1000 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos, 900 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos, 800 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos, 700 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos, 600 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos, 500 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos, 400 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos, 300 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos, 240 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos, 200 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos, 190 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos, 180 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos, 170 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos, 160 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos o 150 x 10^5 M^{-1} $segundo^{-1}$ o menos, según la determinación de una resonancia de plasmón superficial monovalente (Biacore™). En algunas formas de realización, el anticuerpo se une a CCL20 humano con una k_d de 1000 x 10^{-5} $segundo^{-1}$ o menos, 900 x 10^{-5} $segundo^{-1}$ o menos, 800 x 10^{-5} $segundo^{-1}$ o menos, 700 x 10^{-5} $segundo^{-1}$ o menos, 600 x 10^{-5} $segundo^{-1}$ o menos, 500 x 10^{-5} $segundo^{-1}$ o menos, 400 x 10^{-5} $segundo^{-1}$ o menos, 300 x 10^{-5} $segundo^{-1}$ o menos, 240 x 10^{-5} $segundo^{-1}$ o menos, 200 x 10^{-5} $segundo^{-1}$ o menos, 190 x 10^{-5}

segundo^{-1} o menos, 180 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 170 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 160 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 150 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 140 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 130 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 120 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 100 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 90 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 80 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos, 70 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos o 65 x 10^{-5} segundo^{-1} o menos lo cual puede determinarse con una resonancia de plasmón superficial monovalente (Biacore™).

[0144] Como ha de resultar evidente para aquellos versados en la técnica, es posible usar diversos métodos para confirmar que los anticuerpos que se producen de acuerdo con los métodos que se proveen en la presente o con métodos conocidos en la técnica, y las porciones de unión al antígeno de estos, presentan la especificidad requerida (por ejemplo, la especificidad de unión o la especificidad con relación a los epitopes). Por ejemplo, la función de unión de un anticuerpo anti-CCL20 humanizado de la invención, o de una porción de este, que presenta especificidad de unión por CCL20 humano, puede determinarse con cualquier método apropiado, por ejemplo, con ensayos para monitorear la formación de un complejo entre el anticuerpo humanizado o una porción de este y CCL20 humano (o por ejemplo, un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos similar a la de CCL20 o un soporte sólido que comprende CCL20 humano).

[0145] La capacidad de un anticuerpo de la invención, o de una porción de unión al antígeno de este (por ejemplo, un anticuerpo humanizado de la invención o una porción de este), de unirse al mismo epitope en CCL20 humano que un anticuerpo monoclonal humanizado murino o quimérico como los que se describen en la

presente, o de unirse a un epitope en CCL20 humano que está superpuesto con el epitope en CCL20 humano al que se une un anticuerpo monoclonal humanizado murino o quimérico como los que se describen en la presente, puede determinarse con facilidad usando una variedad de procedimientos conocidos en la técnica, lo que abarca, por ejemplo, los ensayos de unión competitiva. En estos ensayos, puede usarse una forma marcada del anticuerpo en cuestión para medir la unión entre el anticuerpo marcado y CCL20 humano, en presencia o ausencia de un anticuerpo de la invención.

[0146] Un "epitope", tal como se lo emplea en la presente, abarca cualquier determinante proteico de la unión específica a un anticuerpo. En la técnica se conocen métodos para caracterizar el epitope al que se une un anticuerpo. En el ejemplo 9 se describe un método para caracterizar un epitope al que se une un anticuerpo anti-CCL20 de la invención. Una vez que se determina un epitope deseado en un antígeno, es posible generar anticuerpos contra dicho epitope, por ejemplo, usando las técnicas que se describen en la presente invención. Como alternativa, durante el proceso de descubrimiento, mediante la generación y la caracterización de los anticuerpos puede obtenerse información sobre los epitopes deseables. Con esta información, es posible realizar un análisis competitivo de la unión entre los anticuerpos y el epitope. Por ejemplo, aquellos versados en la técnica han de poder llevar a cabo estudios de competición para determinar cuáles anticuerpos pueden competir por la unión al antígeno.

[0147] En una forma de realización, para determinar si un anticuerpo de prueba, o una porción de unión al antígeno de este, se une al mismo epitope que un

anticuerpo humanizado de esta invención, o a un epitope superpuesto con él, se permite que el anticuerpo anti-CCL20 de la invención se una a CCL20 bajo condiciones de saturación y luego se mide la capacidad del anticuerpo de prueba de unirse a CCL20. Si el anticuerpo de prueba puede unirse a CCL20 simultáneamente con el anticuerpo anti-CCL20 de referencia, puede concluirse que el anticuerpo de prueba se une a un epitope que es diferente del epitope al que se une el anticuerpo anti-CCL20 de referencia. Sin embargo, si el anticuerpo de prueba no puede unirse a CCL20 simultáneamente con el anticuerpo anti-CCL20 de referencia, puede concluirse que el anticuerpo de prueba puede unirse al mismo epitope, a un epitope superpuesto o a un epitope que está cerca del epitope al que se une el anticuerpo anti-CCL20 de la invención. Este experimento puede ponerse en práctica usando, por ejemplo, ensayos de ELISA, de RIA, Biacore™ o de citometría de flujo. Para determinar si un anticuerpo anti-CCL20 compite de manera transversal con otro anticuerpo anti-CCL20, puede usarse el método de competición que se describió con anterioridad en dos direcciones, lo que abarca determinar si el anticuerpo de referencia bloquea el anticuerpo de prueba y si el anticuerpo de prueba bloquea el anticuerpo de referencia. En algunas formas de realización, el experimento se lleva a cabo con un análisis Biacore™.

[0148] La unión a los epitopes también puede ser útil para caracterizar los anticuerpos de esta invención. En este caso, el término "unión" hace referencia a un método para agrupar los anticuerpos sobre la base de sus características de unión al antígeno. En la Solicitud de Patente Internacional n.º WO 03/48731 se

describe un proceso de alto desempeño para "unir" los anticuerpos sobre la base de su capacidad de competir de manera transversal. La "unión a los epitopes" puede analizarse llevando a cabo la unión de una forma no marcada de un anticuerpo anti-CCL20 "A" con un péptido sintético con una secuencia similar a la de CCL20 o con células positivas para CCL20. Después, se agrega un segundo anticuerpo anti-CCL20 marcado "B" y se determina la cantidad del anticuerpo marcado que se une, en comparación con una muestra control, donde las células o el péptido sintético no han sido expuestos con antelación al anticuerpo anti-CCL20 "A." Como alternativa, es posible marcar los anticuerpos anti-CCL20 "A" y "B" con distintos fluorocromos o sustancias químicas para permitir la detección, para luego medir las cantidades de los anticuerpos marcados que pueden unirse simultáneamente al péptido CCL20, para lo cual se emplea un dispositivo con el que puede detectarse la marca o un dispositivo con el que puede ponerse en práctica una citometría de flujo, con el propósito de determinar la cantidad de los dos anticuerpos que se unen simultáneamente a las células positivas para CCL20. Con las tecnologías Biacore™ y Octet puede investigarse la unión competitiva de las formas no marcadas de los anticuerpos. Resulta deseable usar formas no marcadas de los anticuerpos, ya que mediante la modificación química de algunos anticuerpos puede comprometerse la actividad de unión. Véase también la tecnología que se describe en Jia *et al.*, *J. Immunol. Methods* 288:91-98 (2004), que también es útil para analizar la unión a los epitopes.

[0149] En la presente también se proveen porciones de los anticuerpos anti-CCL20 de la invención, por ejemplo, cadenas livianas, cadenas pesadas y

porciones de las cadenas livianas y pesadas. Estas porciones de anticuerpos pueden obtenerse o derivar de anticuerpos (por ejemplo, mediante procesos de reducción y/o escisión) o pueden producirse o expresarse a través de ácidos nucleicos que codifican una porción de un anticuerpo, o de una cadena de este, que presenta una propiedad deseada (por ejemplo, la unión a CCL20 humano, la similitud a nivel de la secuencia). Las porciones pueden prepararse, por ejemplo, por medio de la síntesis *de novo* del fragmento relevante. Los anticuerpos humanizados que comprenden las porciones deseadas (por ejemplo, la región de unión al antígeno, la CDR, la FR, la región C), que pueden ser de origen humano o no humano, pueden producirse usando ácidos nucleicos sintéticos y/o recombinantes, con los que pueden prepararse construcciones (por ejemplo, ADNc) que codifican la cadena del anticuerpo humanizado deseado. Por ejemplo, para preparar una porción de un anticuerpo (por ejemplo, una porción de una cadena), pueden introducirse uno o más codones de terminación en la posición deseada en la secuencia de aminoácidos. Las secuencias de ácidos nucleicos (por ejemplo, de ADN) que codifican las regiones variables humanizadas pueden construirse usando métodos de mutagénesis por PCR, de manera tal de alterar las secuencias de ADN existentes (véase, por ejemplo, Kamman *et al.*, *Nucl. Acids Res.* 17:5404 (1989)). Los cebadores de PCR que codifiquen las nuevas CDR podrán hacerse hibridar con un molde de ADN de una región variable que haya sido humanizada con antelación, que podrá estar basada en una región variable humana idéntica o muy similar (Sato *et al.*, *Cancer Research* 53:851-856 (1993)). Si no hay una secuencia de ADN similar disponible para usarla como molde,

puede construirse un ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica un fragmento de la región variable a partir de oligonucleótidos sintéticos (véase, por ejemplo, Kolbinger, *Protein Engineering* 8:971-980 (1993)). También es posible incorporar una secuencia que codifica un péptido señal (una "secuencia señal") en el ácido nucleico (por ejemplo, durante la síntesis o la inserción en el vector). Si no hay una secuencia de un péptido señal disponible (por ejemplo, si típicamente no está presente), puede usarse la secuencia del péptido señal de otro anticuerpo (véase, por ejemplo, Kettleborough, *Protein Engineering* 4:773-783 (1991)). Las variantes pueden producirse fácilmente usando estos métodos, los métodos que se describen en la presente u otros métodos apropiados.

[0150] Tal como se la emplea en la presente, la sigla "mAb" (o "MAb") hace referencia a un anticuerpo monoclonal, que puede ser, por ejemplo, un anticuerpo que es sintetizado por una población clonal de células o un anticuerpo humanizado. Una población clonal que produce un anticuerpo monoclonal puede ser una población clonal de células inmortalizadas. En algunas formas de realización, las células inmortalizadas en la población clonal son células híbridas (hibridomas), que típicamente se producen mediante la fusión de linfocitos B individuales provenientes de un animal que fue inmunizado con células individuales de un tumor linfocítico.

[0151] la invención se relaciona en parte con un anticuerpo humanizado, o con una porción de unión al antígeno de este, que presenta especificidad de unión por CCL20 humano y que comprende una cadena liviana humanizada y una cadena pesada humanizada, y/o porciones de estas. En una forma de realización, el

anticuerpo humanizado comprende una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 7 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 1; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 7 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 2; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 7 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 3; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 7 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 4; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 7 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 5; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 7 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 6; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 8 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 1; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 8 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 2; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 8 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 3; una

cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 8 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 4; una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 8 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 5; o una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 8 y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 6.

[0152] En una forma de realización, un anticuerpo humanizado de la invención comprende la CDR1 de la cadena pesada (H), la H-CDR2, la H-CDR3, la CDR1 de la cadena liviana (L), la L-CDR2 y la L-CDR3, cuyas secuencias de aminoácidos pueden ser

a) SEQ ID N.º 60, 64, 67, 70, 73 y 75, respectivamente;

b) SEQ ID N.º 60, 64, 67, 71, 73 y 75, respectivamente;

c) SEQ ID N.º 60, 63, 67, 70, 73 y 75, respectivamente;

d) SEQ ID N.º 60, 63, 67, 71, 73 y 75, respectivamente;

e) SEQ ID N.º 61, 65, 68, 70, 73 y 75, respectivamente;

f) SEQ ID N.º 61, 65, 68, 71, 73 y 75, respectivamente;

g) SEQ ID N.º 77, 79, 67, 70, 73 y 75, respectivamente;

h) SEQ ID N.º 77, 79, 67, 71, 73 y 75, respectivamente;

i) SEQ ID N.º 78, 80, 68, 70, 73 y 75, respectivamente; y

j) SEQ ID N.º 78, 80, 68, 71, 73 y 75, respectivamente.

[0153] En otra forma de realización, un anticuerpo humanizado de esta invención

comprende una H-CDR3 cuya secuencia es SEQ ID N.º 67 o 68. En determinadas formas de realización, un anticuerpo humanizado de esta invención comprende una H-CDR3 y una L-CDR3 cuyas secuencias son SEQ ID N.º 67 y 75, respectivamente; o SEQ ID N.º 68 y 75, respectivamente.

[0154] En otra forma de realización, el anticuerpo humanizado presenta especificidad de unión por CCL20 humano y comprende una cadena liviana que comprende una o más CDR seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID N.º 70 o 71, 73 y 75, o una combinación de estas; y una cadena pesada que comprende una o más CDR seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID N.º 60, 61, 77 o 78, 63, 64, 65, 79 u 80 y 67 o 68, o una combinación de estas.

[0155] En otra forma de realización, el anticuerpo humanizado que presenta especificidad de unión por CCL20 humano comprende una cadena liviana que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 7, 8, 110 o 112, y una cadena pesada que comprende una o más CDR (por ejemplo, las tres CDR) de SEQ ID N.º 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 108.

[0156] la invención también se relaciona con una cadena liviana que proviene de un anticuerpo humanizado como los que se describen en la presente. En una forma de realización, la cadena liviana del anticuerpo humanizado comprende una o más CDR seleccionadas del grupo que consiste en 70 o 71, 73 y 75, o una combinación de estas. Por ejemplo, el anticuerpo humanizado comprende una L-CDR1, una L-CDR2 y una L-CDR3 cuyas secuencias de aminoácidos son SEQ ID N.º 70, 73 y 75, respectivamente, o SEQ ID N.º 71, 73 y 75, respectivamente.

[0157] la invención también se relaciona con una cadena pesada que proviene de

un anticuerpo humanizado como los que se describen en la presente. En una forma de realización, la cadena pesada del anticuerpo humanizado comprende una o más CDR seleccionadas del grupo que consiste en 60, 61, 77 o 78, 63, 64, 65, 79 u 80 y 67 o 68, o una combinación de estas. Por ejemplo, el anticuerpo humanizado puede comprender una H-CDR1, una H-CDR2 y una H-CDR3 con secuencias de aminoácidos como las que se detallan a continuación:

a) SEQ ID N.º 60, 63 y 67;

b) SEQ ID N.º 60, 64 y 67;

c) SEQ ID N.º 61, 65 y 68;

d) SEQ ID N.º 77, 79 y 67; o

e) SEQ ID N.º 78, 80 y 68.

[0158] En una forma de realización, un anticuerpo humanizado de esta invención comprende una cadena liviana que comprende un dominio variable (V_L) que tiene la secuencia de SEQ ID N.º 15 o 16. En una forma de realización relacionada, el anticuerpo humanizado comprende una cadena liviana cuya secuencia de aminoácidos comprende SEQ ID N.º 7, 8, 110 o 112 o consiste en dicha secuencia. En una forma de realización, el anticuerpo humanizado comprende una cadena liviana cuya secuencia de aminoácidos comprende SEQ ID N.º 7 u 8, pero sin la secuencia señal, o consiste en dicha secuencia.

[0159] En una forma de realización, un anticuerpo humanizado de esta invención comprende una cadena pesada que comprende un dominio variable (V_H) que tiene la secuencia de SEQ ID N.º 9-14. En una forma de realización relacionada, el anticuerpo humanizado comprende una cadena pesada cuya secuencia de

aminoácidos comprende una de SEQ ID N.º 1-6 y 108, o consiste en dicha secuencia. En una forma de realización, el anticuerpo humanizado comprende una cadena pesada cuya secuencia de aminoácidos comprende una de SEQ ID N.º 1-6, pero sin la secuencia señal y opcionalmente sin la lisina en el extremo C, o consiste en dicha secuencia. En una forma de realización, el anticuerpo humanizado comprende una cadena pesada cuya secuencia de aminoácidos comprende una de SEQ ID N.º 108, pero sin la lisina en el extremo C, o consiste en dicha secuencia.

[0160] En algunas formas de realización, un anticuerpo humanizado de esta invención comprende un dominio V_H y un dominio V_L que comprenden las secuencias de aminoácidos que se detallan a continuación, o consisten en ellas:

a) SEQ ID N.º 9 y SEQ ID N.º 15;

b) SEQ ID N.º 10 y SEQ ID N.º 15;

c) SEQ ID N.º 11 y SEQ ID N.º 15;

d) SEQ ID N.º 12 y SEQ ID N.º 15;

e) SEQ ID N.º 13 y SEQ ID N.º 15;

f) SEQ ID N.º 14 y SEQ ID N.º 15;

g) SEQ ID N.º 9 y SEQ ID N.º 16;

h) SEQ ID N.º 10 y SEQ ID N.º 16;

i) SEQ ID N.º 11 y SEQ ID N.º 16;

j) SEQ ID N.º 12 y SEQ ID N.º 16;

k) SEQ ID N.º 13 y SEQ ID N.º 16; o

l) SEQ ID N.º 14 y SEQ ID N.º 16.

[0161] En una forma de realización, un anticuerpo humanizado de esta invención comprende una cadena liviana (LC) y una cadena pesada (HC) que comprenden las secuencias de aminoácidos que se detallan a continuación, o consisten en ellas:

a) SEQ ID N.º 1 y SEQ ID N.º 7;

b) SEQ ID N.º 2 y SEQ ID N.º 7;

c) SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 7;

d) SEQ ID N.º 4 y SEQ ID N.º 7;

e) SEQ ID N.º 5 y SEQ ID N.º 7;

f) SEQ ID N.º 6 y SEQ ID N.º 7;

g) SEQ ID N.º 1 y SEQ ID N.º 8;

h) SEQ ID N.º 2 y SEQ ID N.º 8;

i) SEQ ID N.º 3 y SEQ ID N.º 8;

j) SEQ ID N.º 4 y SEQ ID N.º 8;

k) SEQ ID N.º 5 y SEQ ID N.º 8;

l) SEQ ID N.º 6 y SEQ ID N.º 8.

m) SEQ ID N.º 108 y SEQ ID N.º 111; y

n) SEQ ID N.º 108 y SEQ ID N.º 112;

donde estas secuencias de aminoácidos carecen de la secuencia señal, y donde SEQ ID N.º 1-6 y SEQ ID N.º 108 opcionalmente carecen de la lisina en el extremo C.

[0162~~0162~~] En la presente invención se provee cualquier combinación que comprende una cadena pesada humanizada como las que se describen a modo

de ejemplo en la presente, o una porción de unión al antígeno de esta, y una cadena liviana humanizada como las que se describen a modo de ejemplo en la presente, o una porción de unión al antígeno de esta. En otras palabras, es posible combinar las cadenas pesadas y las cadenas livianas. Ha de comprenderse que es probable que las combinaciones resultantes retengan la capacidad de unirse a CCL20 humano y la actividad de neutralización de la quimiotaxis. Estas propiedades funcionales pueden evaluarse con facilidad usando los métodos que se describen en la presente. En efecto, en la figura 7 se ilustra la actividad de neutralización de diversas combinaciones de cadenas pesadas y cadenas livianas que se describen a modo de ejemplo en la presente.

[01630163] En esta invención también se proveen anticuerpos anti-CCL20 humano, o porciones de unión al antígeno de estos, que se unen a los mismos epitopes que un anticuerpo como los que se describen a modo de ejemplo en la presente, o que compiten o compiten de manera transversal con él. Estos anticuerpos pueden ser, por ejemplo, anticuerpos humanizados, quiméricos o de ratón. Por ejemplo, en la invención se proveen anticuerpos anti-CCL20 humano, y porciones de estos, que se unen al mismo epitope que los anticuerpos anti-CCL20 de ratón 36F7C10, 40-1C10B9 y 42G5B10 o las versiones humanizadas o quiméricas de estos, o que compiten o compiten de manera transversal con ellos. La capacidad de un anticuerpo de unirse al mismo epitope que un anticuerpo de referencia, o de competir o competir de manera transversal con él, puede determinarse como se describe en la presente. A modo de ejemplo no limitativo, se espera que cualquier anticuerpo o cualquier porción de anticuerpo que

comprenda las tres CDR de la cadena pesada y las tres CDR de la cadena liviana del anticuerpo de ratón 36F7C10 pueda unirse al mismo epitope que el anticuerpo de ratón 36F7C10, o que pueda competir o competir de manera transversal con él. Estos anticuerpos pueden incluir, por ejemplo, los anticuerpos cuya cadena pesada comprende cualquiera de SEQ ID N.º 9-11 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 15 o 16. En algunas formas de realización, estos anticuerpos también pueden incluir, por ejemplo, los anticuerpos cuya cadena pesada comprende cualquiera de SEQ ID N.º 12-14 y cuya cadena liviana comprende SEQ ID N.º 15 o 16.

[0164] Si resulta deseable, por ejemplo, para propósitos de diagnóstico o de ensayo (por ejemplo, en un diagnóstico por imágenes o en el monitoreo de una terapia), el anticuerpo humanizado (o una porción de unión al antígeno de este) puede comprender una marca detectable. Las marcas detectables apropiadas y los métodos para marcar los anticuerpos humanizados o las porciones de unión al antígeno de estos son bien conocidos en la técnica. Las marcas detectables apropiadas abarcan, por ejemplo, los radioisótopos (por ejemplo, el indio 111, el tecnecio 99m o el iodo 131), las marcas que emiten positrones (por ejemplo, el flúor 19), los iones paramagnéticos (por ejemplo, el gadolinio (III) o el manganeso (II)), las marcas en forma de epitopes, las marcas de afinidad (por ejemplo, la biotina o la avidina), la marcas de espín, las enzimas, los grupos fluorescentes y los grupos quimioluminiscentes. Cuando no se emplean marcas, la formación de los complejos (por ejemplo, entre un anticuerpo humanizado y CCL20 humano) puede determinarse con métodos de resonancia de plasmón superficial, de ELISA

o de FACS, o con otros métodos apropiados.

[0165] Los anticuerpos anti-CCL20 o que se usan en la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, también pueden conjugarse, por ejemplo, por medio de reacciones químicas o modificaciones genéticas, con otras unidades (por ejemplo, unidades de pegilación), con el propósito de mejorar su farmacocinética, por ejemplo, su vida media. En algunas formas de realización, los anticuerpos anti-CCL20 que se usan en esta invención pueden unirse a una citoquina apropiada, por ejemplo, por medio de una conjugación química o una modificación genética (por ejemplo, uniendo la secuencia que codifica la citoquina en el mismo marco con la secuencia que codifica el anticuerpo, con lo que se crea una proteína de fusión con el anticuerpo y la citoquina).

[0166] la invención también se relaciona con inmunoconjugados donde el anticuerpo humanizado de la invención (o una porción de unión al antígeno de este) está unido a otro agente terapéutico, que puede ser un compuesto bioactivo (por ejemplo, una citoquina, un superantígeno, un agente citotóxico o una toxina). Por ejemplo, el anticuerpo humanizado que presenta especificidad de unión por CCL20 humano (o por una porción de unión al antígeno de este) puede unirse a una proteína biológica, a una molécula proveniente de una planta o de una bacteria (o a un derivado de esta), a un anticuerpo contra la interleuquina-2 o a un anticuerpo contra la toxina de la difteria.

[0167] Tal como se describe en la presente, se han producido anticuerpos monoclonales de ratón que presentan especificidad de unión por CCL20 humano. Los anticuerpos humanizados y quiméricos de esta invención pueden derivar de

los anticuerpos monoclonales de ratón de esta invención. Vale decir, en algunas formas de realización, los anticuerpos anti-CCL20 humanizados y quiméricos de la invención comprenden secuencias que provienen de un anticuerpo monoclonal de ratón de la invención, por ejemplo, una o más secuencias de las CDR (por ejemplo, las seis CDR) o de uno o más de los dominios variables (por ejemplo, del dominio variable de la cadena pesada o del dominio variable de la cadena liviana).

[0168] Tal como se lo emplea en la presente, el término "anticuerpo monoclonal de ratón" hace referencia a un anticuerpo que contiene las CDR de la cadena liviana (L-CDR1, L-CDR2 y L-CDR3) y las CDR de la cadena pesada (H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3) de un anticuerpo murino, así como regiones del marco de trabajo y constantes de origen murino.

[0169] la invención se relaciona con los anticuerpos monoclonales de ratón que se describen en la presente, así como con porciones de unión al antígeno de estos anticuerpos monoclonales de ratón, con cadenas livianas provenientes de estos anticuerpos monoclonales de ratón, con cadenas pesadas provenientes de estos anticuerpos monoclonales de ratón y con porciones de las cadenas pesadas y las cadenas livianas mencionadas. En una forma de realización particular, el anticuerpo monoclonal de ratón es 36F7C10, 40-1C10B9 o 42G5B10. La invención se relaciona con anticuerpos monoclonales de ratón que carecen de la secuencia señal en la cadena pesada y en la cadena liviana y con anticuerpos monoclonales de ratón que están glucosilados. la invención también se relaciona con anticuerpos precursores, con anticuerpos no glucosilados y con anticuerpos cuyas cadenas pesadas y/o livianas comprenden las secuencias señal. la

invención también se relaciona con moléculas de ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las cadenas pesadas o las cadenas livianas de los anticuerpos que se mencionaron con anterioridad, o porciones de estas, con vectores y células huésped que comprenden dichos ácidos nucleicos, con métodos para producir cualquiera de las cadenas pesadas o las cadenas livianas de los anticuerpos de ratón que se mencionaron con anterioridad, o porciones de estas, y con métodos para usar los anticuerpos de ratón o las porciones de unión al antígeno de estos.

[0170] La función de unión de un anticuerpo monoclonal de ratón que presenta especificidad de unión por CCL20 humano, o de una porción de unión al antígeno de este, puede analizarse usando cualquier método apropiado, por ejemplo, usando ensayos para monitorear la formación de un complejo entre un anticuerpo monoclonal de ratón o una porción de este y CCL20 humano (o por ejemplo, un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos similar a la de CCL20 o un soporte sólido que comprende CCL20 humano).

[0171] En la presente también se proveen porciones de los anticuerpos murinos, que incluyen las cadenas livianas, las cadenas pesadas y las porciones de las cadenas livianas y de las cadenas pesadas. Estas porciones de anticuerpos pueden obtenerse o derivar de los anticuerpos, para lo cual puede recurrirse, por ejemplo, a los medios que se describen en la presente para las porciones de los anticuerpos humanizados.

[0172] En una forma de realización, un anticuerpo monoclonal de ratón de esta invención comprende una cadena liviana que comprende SEQ ID N.º 40, 42 o 44 y también comprende una cadena pesada que comprende SEQ ID N.º 39, 41 o 43.

En una forma de realización determinada, el anticuerpo monoclonal de ratón comprende una cadena liviana que comprende SEQ ID N.º 40 y una cadena pesada que comprende SEQ ID N.º 39; una cadena liviana que comprende SEQ ID N.º 42 y una cadena pesada que comprende SEQ ID N.º 41; o una cadena liviana que comprende SEQ ID N.º 44 y una cadena pesada que comprende SEQ ID N.º 43.

[0173] En otra forma de realización, la invención también se relaciona con un anticuerpo monoclonal de ratón que presenta especificidad de unión por CCL20 humano, que comprende una región variable de la cadena liviana que tiene una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 40, 42 y 44; y una región variable de la cadena pesada que tiene una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 39, 41 y 43.

[0174] la invención también se relaciona con un anticuerpo monoclonal de ratón cuya cadena liviana comprende la región variable de SEQ ID N.º 40, 42 o 44.

[0175] la invención también se relaciona con un anticuerpo monoclonal de ratón cuya cadena pesada comprende la región variable de SEQ ID N.º 39, 41 o 43.

[0176] Si resulta deseable, por ejemplo, para propósitos de diagnóstico o de ensayo (por ejemplo, en un diagnóstico por imágenes), el anticuerpo monoclonal de ratón (o una porción de unión al antígeno de este) puede comprender una marca detectable, que por ejemplo, puede ser como las que se describieron con anterioridad para los anticuerpos humanizados. Los métodos y los procedimientos apropiados que se describen en la presente, en el contexto de los anticuerpos humanizados de esta invención, también pueden usarse para obtener los

anticuerpos monoclonales de ratón de la invención.

[0177] Tal como se describe en la presente, se han producido anticuerpos quiméricos que presentan especificidad de unión por CCL20 humano. Tal como se lo emplea en la presente, el término "anticuerpo quimérico" hace referencia a una proteína recombinante que contiene los dominios variables de un anticuerpo que deriva de una especie y los dominios constantes de un anticuerpo que deriva de una especie diferente. En una forma de realización, el anticuerpo quimérico con especificidad de unión por CCL20 humano comprende dominios variables de un anticuerpo monoclonal de ratón anti-CCL20 humano. En una forma de realización, el anticuerpo quimérico con especificidad de unión por CCL20 humano comprende los dominios constantes de un anticuerpo humano. En una forma de realización particular, el anticuerpo quimérico comprende los dominios variables de un anticuerpo monoclonal de ratón anti-CCL20 humano y los dominios constantes de un anticuerpo humano.

[0178] la invención se relaciona con los anticuerpos quiméricos que se describen en la presente, así como con porciones de unión al antígeno de estos anticuerpos quiméricos, con cadenas livianas y cadenas pesadas provenientes de estos anticuerpos quiméricos y con porciones de las cadenas pesadas y las cadenas livianas mencionadas. la invención se relaciona con anticuerpos quiméricos que carecen de la secuencia señal en la cadena pesada y en la cadena liviana y con anticuerpos quiméricos que están glucosilados. la invención también se relaciona con anticuerpos precursores, con anticuerpos no glucosilados y con anticuerpos cuyas cadenas pesadas y/o livianas comprenden las secuencias señal. la

invención también se relaciona con moléculas de ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las cadenas pesadas o las cadenas livianas de los anticuerpos que se mencionaron con anterioridad, o porciones de estas, con vectores y células huésped que comprenden dichos ácidos nucleicos, con métodos para producir cualquiera de las cadenas pesadas o las cadenas livianas de los anticuerpos quiméricos que se mencionaron con anterioridad, o porciones de estas, y con métodos para usar los anticuerpos quiméricos.

[0179] La función de unión de un anticuerpo quimérico que presenta especificidad de unión por CCL20 humano puede analizarse usando cualquier método apropiado, por ejemplo, usando ensayos para monitorear la formación de un complejo entre un anticuerpo quimérico y CCL20 humano (o por ejemplo, un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos similar a la de CCL20 o un soporte sólido que comprende CCL20 humano).

[0180] En la presente también se proveen porciones de los anticuerpos quiméricos, que incluyen las cadenas livianas, las cadenas pesadas y las porciones de las cadenas livianas y de las cadenas pesadas. Estas porciones de anticuerpos pueden obtenerse o derivar de los anticuerpos, para lo cual puede recurrirse, por ejemplo, a los medios que se describen en la presente para las porciones de los anticuerpos humanizados.

[0181] En una forma de realización, un anticuerpo quimérico de esta invención comprende la región variable de la cadena liviana de SEQ ID N.º 40 y la región variable de la cadena pesada de SEQ ID N.º 39; la región variable de la cadena liviana de SEQ ID N.º 42 y la región variable de la cadena pesada de SEQ ID N.º

41; o la región variable de la cadena liviana de SEQ ID N.º 44 y la región variable de la cadena pesada de SEQ ID N.º 43.

[0182] la invención también se relaciona con un anticuerpo quimérico que presenta especificidad de unión por CCL20 humano, que comprende una región variable de la cadena liviana que tiene una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 40, 42 o 44; y que también comprende una región variable de la cadena pesada que tiene una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 39, 41 o 43.

[0183] la invención también se relaciona con una cadena liviana quimérica que comprende una región variable como la que se detalla en SEQ ID N.º 40, 42 o 44.

[0184] la invención también se relaciona con una cadena pesada quimérica que comprende una región variable como la que se detalla en SEQ ID N.º 39, 41 o 43.

[0185] Si resulta deseable, por ejemplo, para propósitos de diagnóstico o de ensayo (por ejemplo, en un diagnóstico por imágenes), el anticuerpo quimérico (o una porción de unión al antígeno de este) puede comprender una marca detectable, que por ejemplo, puede ser como las que se describen en la presente para los anticuerpos humanizados. Los métodos y los procedimientos apropiados que se describen en la presente, en el contexto de los anticuerpos humanizados de esta invención, también pueden usarse para obtener los anticuerpos quiméricos de la invención.

[0186] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-CCL20 de la invención es un anticuerpo completamente humano. Tal como se lo emplea en la presente, el término "anticuerpo humano" hace referencia a un anticuerpo donde las

secuencias de los dominios variables y constantes son secuencias humanas. El término abarca aquellos anticuerpos que comprenden secuencias que derivan de genes humanos, pero que han sido modificadas, por ejemplo, para disminuir la inmunogenicidad potencial, para incrementar la afinidad, para eliminar las cisteínas que podrían provocar pliegues indeseables, etcétera. El término también abarca los anticuerpos que se producen por medios recombinantes en células no humanas, que pueden producir una glucosilación inusual para las células humanas. En la técnica se conocen métodos para preparar anticuerpos completamente humanos. Por ejemplo, los anticuerpos anti-CCL20 humano pueden identificarse con métodos in vitro, tales como la presentación en fagos, la presentación en ribosomas (CAT), la presentación en levaduras y semejantes, o pueden producirse a partir de una célula B humana o un hibridoma humano. Como alternativa, los anticuerpos humanos pueden producirse por medio de una inmunización con un antígeno de CCL20 en diversos animales transgénicos no humanos, en cuyos genomas puede haber loci que codifican algunas o la totalidad de las cadenas pesadas y las cadenas livianas de las inmunoglobulinas humanas. En algunas formas de realización, el animal no humano que comprende genes que codifican inmunoglobulinas humanas es un animal que comprende un "minilocus" de una inmunoglobulina humana (que por ejemplo, puede obtenerse en GenPharm International, Inc.). En algunas formas de realización, los anticuerpos anti-CCL20 humano se producen usando un sistema XENOMOUSE® (Abgenix, Inc., Fremont, CA), un sistema basado en ratones HuMAb® (Medarex, Inc.), un sistema basado en ratones VelocImmune® (Regeneron Pharmaaceuticals, Inc.),

un sistema basado en ratones AlivaMab (Ablexis, LLC), un sistema basado en ratones KM™ (Kirin Pharma USA, Inc.), o semejantes.

[0187] La presente invención también se relaciona con ácidos nucleicos aislados y/o recombinantes que comprenden secuencias que codifican un anticuerpo humanizado, o una cadena liviana o una cadena pesada de este, un anticuerpo monoclonal de ratón, o una cadena liviana o una cadena pesada de este, un anticuerpo quimérico, o una cadena liviana o una cadena pesada de este, o porciones de unión al antígeno de cualquiera de los anteriores, cada uno de los cuales tiene las características que se describen en la presente. En algunas formas de realización, en la presente invención se provee una secuencia de ácido nucleico que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 17-32, 51-56, 109, 111 y 113.

[0188] En algunas formas de realización, las moléculas de ácidos nucleicos de la invención incluyen secuencias de ácidos nucleicos que hibridan bajo condiciones muy severas con una o más de las secuencias de ácidos nucleicos que se describen en la presente, o con una secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de cualquiera de los dominios V_H o V_L que se mencionaron con anterioridad, o bien secuencias que son al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idénticas a las secuencias mencionadas.

[0189] En la presente, los ácidos nucleicos que se califican como "aislados" o "purificados" son ácidos nucleicos que han sido separados del ARN genómico o del ARN celular que pueden estar presentes en la fuente (por ejemplo, en las células o en una mezcla de ácidos nucleicos, por ejemplo, una biblioteca), y

abarcan los ácidos nucleicos que pueden obtenerse con métodos como los que se describen en la presente o con otros métodos apropiados. En algunas formas de realización, los ácidos nucleicos aislados son ácidos nucleicos esencialmente puros, son ácidos nucleicos que se producen por medio de una síntesis química, son ácidos nucleicos que se producen con combinaciones de métodos biológicos y químicos o son ácidos nucleicos recombinantes aislados (véanse, por ejemplo, Daugherty *et al.*, *Ácidos nucleicos Res.* 19(9):2471-2476 (1991); Lewis y Crowe, *Gene* 101:297-302 (1991)).

[0190] Una referencia a una secuencia de nucleótidos abarca su complemento, a menos que se indique lo contrario. Por lo tanto, ha de interpretarse que una referencia a un ácido nucleico que tiene una secuencia particular abarca su cadena complementaria, es decir, la secuencia complementaria. El término "polinucleótido", tal como se lo emplea en la presente, hace referencia a una molécula polimérica, que puede estar aislada, que está compuesta por 10 bases nucleotídicas, que pueden ser ribonucleótidos o desoxinucleótidos, o bien una forma modificada de cualquier tipo de nucleótido. El término abarca las formas de cadena simple y las formas de cadena doble.

[0191] En la presente, los ácidos nucleicos que se califican como "recombinantes" son ácidos nucleicos que se producen con una metodología de ADN recombinante, lo que abarca aquellos ácidos nucleicos que se generan con procedimientos que se basan en métodos de recombinación artificial, tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y/o la clonación en un vector, mediante el uso de enzimas de restricción. En algunas formas de realización, los

ácidos nucleicos recombinantes son el resultado de acontecimientos de recombinación que ocurren a través de los mecanismos naturales de las células, pero que son seleccionados después de introducirlos en las células, sobre la base de las características deseadas.

[0192] Más específicamente, la presente invención también se relaciona con ácidos nucleicos aislados y/o recombinantes que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo humanizado, un anticuerpo de ratón o un anticuerpo quimérico, o bien una porción de unión al antígeno de dicho anticuerpo, que presenta especificidad de unión por CCL20 humano. En algunas formas de realización, el anticuerpo es un anticuerpo de ratón de acuerdo con la presente invención, un anticuerpo humanizado de acuerdo con la presente invención, en el cual las una o más porciones no humanas derivan de un anti-CCL20 anticuerpo monoclonal murino, o un anticuerpo quimérico de acuerdo con la presente invención, en el cual las una o más porciones no humanas derivan de un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 murino.

[0193] En algunas formas de realización, los ácidos nucleicos de la invención se usan para producir anticuerpos humanizados que presentan especificidad de unión por CCL20 humano, anticuerpos de ratón que presentan especificidad de unión por CCL20 humano o anticuerpos quiméricos que presentan especificidad de unión por CCL20 humano. Por ejemplo, uno o más ácidos nucleicos (que por ejemplo, pueden ser ADN (tal como ADNc) o ARN) que codifican un anticuerpo humanizado, un anticuerpo de ratón o un anticuerpo quimérico de la presente invención pueden incorporarse en una construcción (por ejemplo, un vector

recombinante), que puede usarse para manipular secuencias o para producir los anticuerpos codificados en las células huésped apropiadas.

[0194] También se proveen construcciones y vectores apropiados para expresar un anticuerpo humanizado que presenta especificidad de unión por CCL20 humano, un anticuerpo de ratón que presenta especificidad de unión por CCL20 humano o un anticuerpo quimérico que presenta especificidad de unión por CCL20 humano. Hay diversos vectores disponibles, que incluyen los vectores que se mantienen en una sola copia o en múltiples copias en una célula huésped, así como los vectores que se integran en uno o más cromosomas de una célula huésped. Las construcciones y los vectores pueden introducirse en una célula huésped apropiada, y las células donde se expresa un anticuerpo humanizado, un anticuerpo de ratón o un anticuerpo quimérico de la presente invención pueden producirse y mantenerse en un cultivo. Pueden usarse uno o más vectores para expresar un anticuerpo humanizado, un anticuerpo de ratón o un anticuerpo quimérico que presenta especificidad de unión por CCL20 humano.

[0195] Los vectores de expresión apropiados, por ejemplo, los vectores de expresión que pueden emplearse en células de mamíferos, también pueden contener numerosos componentes, que pueden abarcar, sin limitaciones, uno o más de los siguientes: un origen de replicación, un gen marcador de selección, uno o más elementos para controlar la expresión, por ejemplo, un elemento para controlar la transcripción (por ejemplo, un promotor, un potenciador, un terminador), una o más señales para dirigir la traducción y/o una secuencia señal o una secuencia directriz (que codifica un "péptido señal") para realizar el

direccionamiento a la membrana o la secreción. En una construcción o en un vector, la secuencia señal puede introducirse por medio de una construcción, un vector u otra fuente. Por ejemplo, para dirigir la expresión pueden usarse señales apropiadas para activar la transcripción y/o la traducción de un anticuerpo.

[0196] En algunas formas de realización, se provee un promotor para expresar un anticuerpo o una cadena de un anticuerpo de la invención en una célula huésped apropiada. En algunas formas de realización, el promotor es constitutivo. En algunas formas de realización, el promotor es inducible. El promotor puede estar unido operativamente a un ácido nucleico que codifica un anticuerpo, una cadena de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de un anticuerpo o de una cadena de un anticuerpo, de manera tal que dirige la expresión del polipéptido codificado. Hay diversos promotores disponibles que son apropiados para emplearlos en huéspedes procariotas (por ejemplo, los promotores lac, tac, T3 o T7 para *E. coli*) o eucariotas (por ejemplo, los promotores de la alcohol deshidrogenasa de la levadura (ADH1), SV40 o CMV). Aquellos versados en la técnica han de saber cómo seleccionar un promotor apropiado para expresar un anticuerpo anti-CCL20 de la invención o una porción de unión al antígeno de este.

[0197] En algunas formas de realización, el vector que codifica un anticuerpo o una cadena de un anticuerpo de acuerdo con la invención comprende un marcador para seleccionar las células huésped que contienen el vector. En algunas formas de realización, el marcador de selección es un gen que codifica un producto que confiere resistencia a un antibiótico o a una droga, que puede usarse en células procariotas (por ejemplo, el gen de la β-lactamasa (que confiere

resistencia a la ampicilina), el gen Tet (que confiere resistencia a la tetraciclina), etcétera) o eucariotas (por ejemplo, los genes que confieren resistencia a la neomicina (G418 o geneticina), a gpt (el ácido micofenólico), a la ampicilina o a la higromicina). En algunas formas de realización, el marcador de selección es la dihidrofolato reductasa, con la que puede realizarse una selección con metotrexato en una variedad de huéspedes. En algunas formas de realización, el marcador de selección es un gen que codifica un marcador auxotrófico del huésped (por ejemplo, LEU2, URA3, HIS3), que por ejemplo, puede usarse en levaduras. En algunas formas de realización, el vector es un vector para virus (por ejemplo, un baculovirus) o para fagos. En una forma de realización, el vector puede integrarse en el genoma de la célula huésped (por ejemplo, es un vector retroviral). En algunas formas de realización, el vector puede replicarse y comprende un origen de replicación.

[0198] Por consiguiente, la invención se relaciona con moléculas de ácidos nucleicos aisladas que codifican un anticuerpo humanizado, una cadena liviana humanizada, una cadena pesada humanizada, un anticuerpo de ratón, una cadena liviana de un anticuerpo de ratón, una cadena pesada de un anticuerpo de ratón, un anticuerpo quimérico, una cadena liviana quimérica o una cadena pesada quimérica de acuerdo con invención. la invención también se relaciona con moléculas de ácidos nucleicos aisladas que codifican una porción de unión al antígeno de cualquiera de estos anticuerpos o de sus cadenas. En la descripción precedente y en la sección de ejemplos se describen secuencias de polipéptidos que están codificados por ácidos nucleicos de acuerdo con la invención.

[0199] En algunas formas de realización, un ácido nucleico o un vector de esta invención codifican una cadena pesada (o una porción de unión al antígeno de esta) o una cadena liviana (o una porción de unión al antígeno de esta) de acuerdo con la invención. Una célula huésped que contiene un ácido nucleico que codifica una cadena pesada y un ácido nucleico que codifica una cadena liviana, o bien una célula huésped que contiene un ácido nucleico que codifica porciones de unión al antígeno de dicha cadena pesada y de dicha cadena liviana, puede usarse para obtener un anticuerpo que comprende una cadena pesada y una cadena liviana (o una porción de unión al antígeno de dicho anticuerpo). El ácido nucleico que codifica la cadena pesada y el ácido nucleico que codifica la cadena liviana pueden colocarse en vectores de expresión separados. También es posible colocarlos en un único vector de expresión, con la expresión bajo el control de elementos idénticos o diferentes. Véanse, por ejemplo, las Patentes de los EE. UU. N.º 6331415 y 7662623.

[0200] Otro aspecto de la invención se relaciona con un método para elaborar un anticuerpo anti-CCL20 humano de acuerdo con la invención, o una porción de unión al antígeno de este. El anticuerpo, o la porción de este, puede producirse, por ejemplo, expresando los uno o más ácidos nucleicos recombinantes que codifican el anticuerpo, o la porción de este, en una célula huésped apropiada. La célula huésped puede producirse usando cualquier método apropiado. Por ejemplo, pueden introducirse una o más de las construcciones de expresión que se describen en la presente en una célula huésped apropiada, y la célula resultante puede mantenerse bajo condiciones apropiadas para expresar las una o

más construcciones o los uno o más vectores. En algunas formas de realización, la célula resultante se mantiene en un cultivo, en un animal o en una planta. Las células huésped apropiadas pueden ser procariotas, lo que abarca las bacterias, tales como *E. coli* (por ejemplo, la cepa DH5α™ (Invitrogen, Carlsbad, CA)), *B. subtilis* y/u otra bacteria apropiada, o pueden ser células eucariotas, tales como células fúngicas o de levadura (por ejemplo, *Pichia pastoris*, *Aspergillus sp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Neurospora crassa*), células de otros eucariotas inferiores o células de eucariotas superiores, por ejemplo, células de insectos (por ejemplo, las células S2 de *Drosophila*, Schneider, las células Sf9 (WO 94/26087 (O'Connor)), las células TN5B1-4 (HIGH 5; Invitrogen)), de mamíferos (por ejemplo, las células COS, tales como COS-1 (n.º de Acceso de la ATCC CRL-1650) y COS-7 (n.º de Acceso de la ATCC CRL-1651), las células CHO (por ejemplo, n.º de Acceso de la ATCC CRL-9096), las células CHO DG44 (Urlaub y Chasin., *Proc. Natl. Acac. Sci. USA* 77(7):4216-4220 (1980)), las células 293 (n.º de Acceso de la ATCC CRL-1573), las células HeLa (n.º de Acceso de la ATCC CCL-2), las células CV1 (n.º de Acceso de la ATCC CCL-70), las células WOP (Dailey *et al.*, *J. Virol.* 54:739-749 (1985)), las células 3T3, las células 293T (Pear *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:8392-8396 (1993)), las células NS0, las células SP2/0, las células HuT 78 y semejantes) o de plantas (por ejemplo, células de tabaco, de tabaco, de lemna (lenteja de agua) o de un alga). Véase, por ejemplo, Ausubel *et al.*, editores, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates y John Wiley & Sons Inc. (1993). En algunas formas de realización, la célula huésped no es parte de un organismo

multicelular (por ejemplo, una planta o un animal). En determinadas formas de realización, la célula huésped es una célula huésped aislada o es parte de un cultivo de células.

[0201] La presente invención también se relaciona con células que comprenden un ácido nucleico o un vector de acuerdo con la invención. En algunas formas de realización, el vector es un vector de expresión. En algunas formas de realización, pueden introducirse uno o más ácidos nucleicos que codifican la cadena pesada y la cadena liviana de un anticuerpo humanizado o de una porción de unión al antígeno de este, la cadena pesada y la cadena liviana de un anticuerpo de ratón o de una porción de unión al antígeno de este o la cadena pesada y la cadena liviana de un anticuerpo quimérico o de una porción de unión al antígeno de este, donde dichos anticuerpos o dichas porciones presentan especificidad de unión por CCL20 humano, o bien una o más construcciones que comprenden los ácidos nucleicos que se mencionaron con anterioridad, en una célula huésped apropiada, de acuerdo con un método apropiado. En algunas formas de realización, el método con el que se efectúa la introducción, abarca, por ejemplo, una transformación, una transfección, una electroporación o una infección. En algunas formas de realización, los uno o más ácidos nucleicos están unidos operativamente a uno o más elementos para controlar la expresión. En determinadas formas de realización, los uno o más ácidos nucleicos se encuentran en un vector, en una construcción creada por procesos que ocurren en las células o en una construcción que se ha integrado en el genoma de la célula huésped. Las células huésped pueden mantenerse bajo condiciones apropiadas

para la expresión. En algunas formas de realización, estas condiciones comprenden la presencia de un inductor o de un medio apropiado (por ejemplo, uno que comprende sales, factores de crecimiento, antibióticos, suplementos nutritivos u otros componentes apropiados), de manera tal que se producen los uno o más polipéptidos codificados. Este proceso abarca la expresión en una célula huésped (por ejemplo, una célula de las glándulas mamarias) de un animal o una planta transgénica (por ejemplo, el tabaco; véase, por ejemplo, WO 92/03918). En algunas formas de realización, los anticuerpos o las porciones de estos se aíslan de las células huésped, del medio de cultivo o de la leche.

[0202] La invención también se relaciona con proteínas de fusión que comprenden un anticuerpo de acuerdo con la invención, o una porción de este (por ejemplo, un anticuerpo humanizado o una porción de este), unido a otra unidad (por ejemplo, una unidad que no se encuentra en los anticuerpos en la naturaleza) hacia el extremo N, hacia el extremo C o en una localización interna de la proteína de fusión. En algunas formas de realización, la proteína de fusión puede producirse insertando un ácido nucleico que codifica una o más secuencias de anticuerpos en un vector de expresión apropiado, que puede ser un vector pET (por ejemplo, pET-15b, Novagen), un vector para fagos (por ejemplo, pCANTAB 5 E, Pharmacia) o un vector de otro tipo (por ejemplo, el vector pRIT2T fusionado con la proteína A, Pharmacia). La construcción resultante puede introducirse en una célula huésped apropiada para expresarla. En algunas formas de realización, las proteínas de fusión expresadas se aíslan o se purifican a partir de un lisado celular, usando una matriz de afinidad apropiada (véase, por ejemplo, *Current*

Protocols in Molecular Biology (Ausubel *et al.*, editores, Vol. 2, supl. 26, pp. 16.4.1-16.7.8 (1991)).

[0203] La invención se relaciona con una célula huésped que comprende uno o más ácidos nucleicos recombinantes que codifican un anticuerpo como los que se proveen en la presente, una porción de este, una cadena pesada de este y/o una cadena liviana de este (por ejemplo, un anticuerpo humanizado, una cadena liviana humanizada, una cadena pesada humanizada, un anticuerpo de ratón, una cadena liviana de ratón, una cadena pesada de ratón, un anticuerpo quimérico, una cadena pesada quimérica o una cadena liviana quimérica de acuerdo con la invención). la invención también se relaciona con una célula huésped que comprende uno o más ácidos nucleicos recombinantes que codifican una porción de unión al antígeno de un anticuerpo o de una de sus cadenas. En algunas formas de realización, la célula huésped comprende un vector recombinante de acuerdo con la invención, tal como los que se describen en la presente. En algunas formas de realización, el vector recombinante es un vector de expresión. En determinadas formas de realización, el vector recombinante es un vector para efectuar la expresión en células de mamíferos.

[0204] La invención también se relaciona con un método para preparar un anticuerpo de acuerdo con la invención, o bien una porción, una cadena pesada o una cadena liviana de este. En una forma de realización, el método comprende mantener una célula como las que se describen en la presente bajo condiciones apropiadas para expresar el anticuerpo, o la porción, la cadena pesada y/o la cadena liviana de este. En algunas formas de realización, la célula huésped

contiene uno o más ácidos nucleicos aislados que codifican el anticuerpo de acuerdo con la invención, o la porción, la cadena pesada y/o la cadena liviana de este. En algunas formas de realización, la célula huésped se cultiva en un sustrato o en una suspensión. En algunas formas de realización, el método también comprende un paso en el que se purifica el anticuerpo o una cadena del anticuerpo.

[0205] La invención también se relaciona con un método para preparar anticuerpos o porciones de unión al antígeno de estos por medio de una presentación en fagos. En algunas formas de realización, se analiza una biblioteca de anticuerpos presentados en fagos con el antígeno CCL20. En algunas formas de realización, se usa un método para preparar anticuerpos que está basado en una selección guiada (véase, por ejemplo, la Publicación de Patente de los EE. UU. n.º US 2006-0251658 A1). En determinadas formas de realización, se crea una biblioteca a medida, que se construye sobre la base, por ejemplo, de la región CDR3 fija de una cadena pesada (y/o una cadena liviana) de un anticuerpo anti-CCL20 conocido. Las regiones CDR1 y CDR2 de la cadena pesada y de la cadena liviana pueden derivar de un repertorio no estimulado (Osburn *et al.*, *Methods* 36:61-68 (2005)). En una forma de realización, se generan fragmentos scFv de anticuerpos anti-CCL20 a partir de bibliotecas que comprenden fragmentos scFv de anticuerpos no estimulados, y luego se los usa para obtener anticuerpos quiméricos de ratón-humanos que presentan las propiedades de unión deseadas, los cuales pueden buscarse en las bibliotecas. En algunas formas de realización, se usan bibliotecas de fragmentos scFv de anticuerpos en fagos. En determinadas

formas de realización, se aíslan fragmentos scFv de anticuerpos que reconocen CCL20 a partir de bibliotecas que comprenden fragmentos scFv de anticuerpos, por medio de un procedimiento de selección guiada, después de una serie de ciclos de selección repetidos con CCL20 humano recombinante, esencialmente como se describe en Vaughan *et al. Nature Biotech.* 14:309-314 (1996). En resumen, después de la incubación con la biblioteca, puede aislarse el antígeno inmovilizado, que fue unido con antelación a esferas paramagnéticas, y el fago unido, para lo cual puede recurrirse a una separación magnética, de manera tal de eliminar el fago no unido con un lavado. Después, puede rescatarse el fago unido como se describe en Vaughan *et al.* (1996, supra) y puede repetirse el proceso de selección.

[0206] En una forma de realización particular, se construye una biblioteca que consiste en el dominio variable completo de la cadena pesada de un anticuerpo de ratón anti-CCL20, fusionado en un formato de cadena simple con un repertorio de regiones variables de cadenas livianas humanas no estimuladas. Después de la selección, se identifican las regiones variables de las cadenas livianas humanas complementarias de las regiones variables de las cadenas pesadas de ratón. Se construye una biblioteca que consiste en el repertorio de regiones variables de cadenas livianas humanas que se seleccionaron con anterioridad, fusionadas en un formato de cadena simple a una región variable de la cadena pesada quimérica que consiste en regiones CDR1 y CDR2 humanas no estimuladas y una región CDR3 fija del dominio variable de la cadena pesada de un anticuerpo anti-CCL20 de ratón. Una vez que se realiza la selección de los componentes que se unen a

CCL20, se eligen los mejores clones. Cinco de las seis regiones CDR pueden ser de origen humano, mientras que la CDR3 de la región variable de la cadena pesada puede ser idéntica a la CDR3 original del dominio variable de la cadena pesada de ratón.

[0207] En algunas formas de realización, se llevan a cabo selecciones con CCL20 unido a DYNABEADS M-270 de amina (Dynal), de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. En algunas formas de realización, pueden realizarse selecciones con CCL20 biotinilado, usando el reactivo específico para aminas primarias hexanoato de succinimidil-6-(biotinamido), de acuerdo con las instrucciones del fabricante (biotina EZ link NHS LC, Pierce).

[0208] En algunas formas de realización, se someten las selecciones resultantes a ensayos de competición de alto desempeño, en forma de preparaciones periplasmáticas, con el objeto de determinar la capacidad de los fragmentos scFv presentes de competir por la unión a CCL20.

[0209] La secuencia del ADN de las muestras que pueden competir en los ensayos de alto desempeño puede analizarse como se describe en Vaughan *et al.* (1996, supra); y Osburn *et al.* (2005, supra). Pueden expresarse y purificarse los clones como fragmentos scFv o como IgG, para luego evaluar su capacidad de unirse a CCL20, de neutralizar CCL20 o de presentar una combinación de estas funciones. Para ello, pueden emplearse, por ejemplo, ensayos donde se analiza la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) o la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). Después, pueden elaborarse preparaciones de fragmentos scFv purificados como se describe en el ejemplo 3 de WO

01/66754. Las concentraciones de las proteínas en las preparaciones de fragmentos scFv purificados pueden determinarse usando el método BCA (Pierce). Puede recurrirse a abordajes similares para buscar los miembros de unión óptimos (las cadenas opuestas) para una cadena pesada o una cadena liviana completa y fija de un anticuerpo o para un dominio variable completo y fijo de una cadena pesada o una cadena liviana de un anticuerpo.

[0210] En otra forma de realización, primero se selecciona un anticuerpo anti-CCL20 humano como los que se describen en la presente, o una porción de unión al antígeno de este, que tiene cadenas pesadas y livianas con secuencias tales que presentan una actividad de unión similar por CCL20, de acuerdo con los métodos de impresión de epitopes que se describen en la Publicación PCT n.º WO 93/06213, que se incorpora en la presente a modo de referencia. En determinadas formas de realización, las bibliotecas de anticuerpos que se usan en este método son bibliotecas de fragmentos scFv que se preparan y se analizan como se describe en la Publicación PCT n.º WO 92/01047; McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-554 (1990); y Griffiths *et al.*, *EMBO J.* 12:725-734 (1993), todos los cuales se incorporan en la presente a modo de referencia. En determinadas formas de realización, las bibliotecas de fragmentos scFv de anticuerpos se analizan usando CCL20 humano como antígeno.

[0211] Una vez que se seleccionan los dominios V_L y V_H iniciales, pueden realizarse experimentos de combinación donde se analiza la unión a CCL20 con diversos pares de segmentos de los dominios V_L y V_H que se seleccionaron inicialmente, de manera tal de obtener las mejores combinaciones de pares de

dominios V_L/V_H. Adicionalmente, para mejorar aún más la calidad del anticuerpo, pueden someterse los segmentos de los dominios V_L y V_H de los pares preferidos a una mutación al azar, en un proceso análogo al proceso de mutación somática *in vivo* en el que tiene lugar la maduración por afinidad de los anticuerpos durante una respuesta inmune natural. En algunas formas de realización, las mutaciones al azar ocurren dentro de la región CDR3 del dominio V_H y/o V_L. En determinadas formas de realización, esta maduración por afinidad *in vitro* se efectúa, por ejemplo, amplificando los dominios V_H y V_L con cebadores de PCR complementarios de la CDR3 del dominio V_H o de la CDR3 del dominio V_L, respectivamente, donde los cebadores han sido "tratados" con una mezcla al azar de las cuatro bases nucleotídicas, por lo que los productos que se obtienen con la PCR codifican segmentos de los dominios V_H y V_L en cuyas regiones CDR3 se han introducido mutaciones al azar. Después, puede analizarse nuevamente la unión a CCL20 con los segmentos de los dominios V_H y V_L en los que se han introducido mutaciones al azar.

[0212] Una vez que se ha analizado un anticuerpo anti-CCL20 de la invención y se lo aislado a partir de una biblioteca de presentación de anticuerpos recombinantes, pueden recuperarse los ácidos nucleicos que codifican el anticuerpo seleccionado de la presentación (por ejemplo, del genoma del fago), para luego subclonarlos en otros vectores de expresión, de acuerdo con técnicas de ADN recombinante convencionales. En algunas formas de realización, el ácido nucleico se somete a una manipulación adicional para crear un anticuerpo diferente, de acuerdo con otras formas de realización de la invención, según se describe en la presente. En

determinadas formas de realización, para expresar un anticuerpo humano recombinante que ha sido aislado a partir de una biblioteca de combinación, se clona el ADN que codifica el anticuerpo en un vector de expresión recombinante y se lo introduce en células huésped de mamíferos, tal como se describe en la presente.

[0213] En una forma de realización particular, en la invención se provee un método para producir un hibridoma que secreta un anticuerpo monoclonal que presenta especificidad de unión por CCL20 humano, que comprende administrarle linfocitos de un ratón transgénico para CCL20 a un ratón no transgénico de una cepa idéntica (por ejemplo, CD1) a la del ratón transgénico para CCL20 humano, con lo que se produce un ratón no transgénico inmunizado. Se ponen en contacto esplenocitos del ratón no transgénico inmunizado con células inmortalizadas para producir células de fusión y se mantienen las células de fusión bajo condiciones apropiadas para que los hibridomas secreten un anticuerpo monoclonal que presente especificidad de unión por CCL20 humano, con lo que se produce un hibridoma que secreta un anticuerpo monoclonal que presenta especificidad de unión por CCL20 humano.

[0214] En la presente invención también se proveen métodos para preparar formas mutadas de los anticuerpos anti-CCL20 de acuerdo con la invención, o de porciones de unión al antígeno de estos. En algunas formas de realización, se realizan mutaciones en los dominios variables de las cadenas pesadas y/o las cadenas livianas de los anticuerpos, o de las porciones de estos. En determinadas formas de realización, con estas mutaciones se alteran una o más propiedades de

unión de los anticuerpos o de las porciones de estos. En formas de realización particulares, se realiza una mutación en una o más de las regiones CDR para incrementar o disminuir la K_D del anticuerpo anti-CCL20 o de la porción de este, para incrementar o disminuir la k_{off} o para alterar la especificidad de unión del anticuerpo o de la porción de este. En la técnica se conocen procedimientos para realizar una mutagénesis en un sitio determinado. Véanse, por ejemplo, Sambrook *et al.* y Ausubel *et al.*, *supra*. En otra forma de realización, se realizan una o más mutaciones en un residuo de aminoácido específico para obtener el aminoácido que presenta el anticuerpo monoclonal de la línea germinal de acuerdo con la invención. En determinadas formas de realización, las mutaciones se realizan en una región CDR o una región del marco de trabajo de un dominio variable o de un dominio constante. En una forma de realización particular, las mutaciones se realizan en un dominio variable. En algunas formas de realización, se realizan una o más mutaciones en residuos de aminoácidos específicos de la región CDR o la región del marco de trabajo para obtener los residuos que presenta el dominio variable de un anticuerpo de la línea germinal de acuerdo con la invención, o una porción de este.

[0215] En otra forma de realización, se muta la región del marco de trabajo para que la región del marco de trabajo resultante tenga la secuencia de aminoácidos del gen de la línea germinal correspondiente. En determinadas formas de realización, se realizan una o más mutaciones en una región del marco de trabajo o en un dominio constante para incrementar la vida media del anticuerpo anti-CCL20 o de una porción de este. Véase, por ejemplo, la Publicación PCT WO

00/09560. En determinadas formas de realización, se realiza una mutación en la región del marco de trabajo o en el dominio constante para alterar la inmunogenicidad del anticuerpo o para introducir un sitio en el que pueda ocurrir una unión covalente o no covalente con otras moléculas. De acuerdo con la invención, un anticuerpo individual, o una porción de este, puede comprender mutaciones en cualquiera de las CDR o las regiones del marco de trabajo del dominio variable o del dominio constante.

[0216] Los anticuerpos anti-CCL20 de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, pueden producirse con abordajes transgénicos, a través de la generación de mamíferos o plantas transgénicas para las secuencias de la cadena pesada y la cadena pesada del anticuerpo de interés y la producción del anticuerpo en una forma que puede recuperarse. En algunas formas de realización, los anticuerpos anti-CCL20 o las porciones de estos se producen y se recuperan a partir de leche de cabra, de vaca o de otros mamíferos. Véanse, por ejemplo, las Patentes de los EE. UU. n.º 5827690, 5756687, 5750172 y 5741957. En algunas formas de realización, se inmunizan animales no humanos que comprenden loci de anticuerpos humanos con CCL20 humano o con una porción inmunogénica de este, tal como se describió con anterioridad. Se describen métodos para elaborar anticuerpos en plantas, por ejemplo, en las Patentes de los EE. UU. n.º 6046037 y 5959177.

[0217] En algunas formas de realización, las plantas o los animales no humanos transgénicos se producen introduciendo una o más moléculas de ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo anti-CCL20 de acuerdo con la invención, o una

porción de este, en la planta o en el animal, de acuerdo con abordajes transgénicos convencionales. Véanse Hogan y la Patente de los EE. UU. n.º 6417429, *supra*. En determinadas formas de realización, las células transgénicas que se emplean para obtener el animal transgénico pueden ser células madre embrionarias, células somáticas u oocitos fertilizados. En algunas formas de realización, las plantas o los animales no humanos transgénicos son plantas o animales no humanos transgénicos quiméricos, no quiméricos heterocigotas o no quiméricos homocigotas. Véanse, por ejemplo, Hogan *et al.*, *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual* 2ª edición, Cold Spring Harbor Press (1999); Jackson *et al.*, *Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach*, Oxford University Press (2000); y Pinkert, *Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook*, Academic Press (1999). En algunas formas de realización, las plantas o los animales no humanos transgénicos presentan una alteración y un reemplazo específicos, que se producen con una construcción que codifica una cadena pesada y/o una cadena liviana de interés. En determinadas formas de realización, en las plantas o los animales transgénicos se expresan moléculas de ácidos nucleicos que codifican cadenas pesadas y livianas que se unen específicamente a CCL20 humano. Los anticuerpos anti-CCL20, o las porciones de estos, pueden generarse en cualquier planta o animal no humano transgénico. En formas de realización particulares, los animales no humanos son ratones, ratas, ovejas, cerdos, cabras, vacas o caballos. Los polipéptidos codificados pueden expresarse en la leche, la orina, la saliva, las lágrimas, la mucosidad u otros fluidos corporales del animal no humano transgénico.

[0218] Los anticuerpos de acuerdo con la invención, y las porciones de unión al antígeno de estos, son útiles para neutralizar la quimiotaxis inducida por CCL20, por ejemplo, en células CCR6+, tales como las células dendríticas (DC) inmaduras, las células T efectoras o de memoria y las células B. Por consiguiente, los anticuerpos y las porciones de estos pueden ser útiles para tratar diversas enfermedades y afecciones, que pueden ser inflamaciones, enfermedades autoinmunes o cánceres. Los ejemplos de enfermedades y afecciones que pueden tratarse con los anticuerpos de acuerdo con la invención, o con las porciones de unión al antígeno de estos, incluyen, sin limitaciones, la enfermedad de Graves, el vitíligo, el hipertiroidismo, la artritis reumática, la psoriasis, la dermatitis atópica, la dermatitis de contacto, la enfermedad de Crohn, la enfermedad intestinal inflamatoria, las afecciones malignas de las células B, el adenocarcinoma de mama, la hepatitis crónica, el glioblastoma, el carcinoma hepatocelular, las infecciones de papilomavirus humanos en el cuello uterino, las micosis fungoides, el adenocarcinoma pancreático, la enfermedad periodontal, el carcinoma papilar en la tiroides, la pustulosis en las palmas y en las plantas de los pies, las afecciones relacionadas con el exantema maculopapular, la epidermólisis bulbosa, la alopecia areata, la esclerosis múltiple, la polimiositis, la dermatomiositis, la enfermedad de Behcet, la pustulosis exantematosa generalizada aguda, los vasculítidos, la artritis idiopática juvenil, la sarcoidosis, el asma bronquial, la rinitis alérgica, el rechazo de aloinjertos renales, la enfermedad del injerto contra el huésped, el rechazo de aloinjertos hepáticos, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la fibrosis quística, la glomerulonefritis, las infecciones del virus sincicial

respiratorio, el mieloma múltiple y la histiocitosis en las células de Langerhans. En algunas formas de realización, en la invención se proveen métodos para tratar cualquier afección asociada a CCR6.

[0219] Por lo tanto, en la invención se proveen métodos para tratar una inflamación, una enfermedad autoinmune o un cáncer, que comprenden administrarle una cantidad eficaz de un anticuerpo de acuerdo con la invención, o de una porción de este, a un sujeto que lo necesita. En algunas formas de realización, el sujeto es un paciente humano que padece una enfermedad autoinmune, un cáncer y/o una inflamación, o que se encuentra en riesgo de contraerla. En algunas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de este, se administra con fines profilácticos, para prevenir el inicio o la recurrencia de una inflamación, de una enfermedad autoinmune o de un cáncer.

[0220] Los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, pueden administrársele a un individuo (por ejemplo, a un ser humano) solos o en combinación con otro agente, en una terapia combinada. Los anticuerpos, o las porciones de estos, pueden administrarse antes del agente adicional, simultáneamente con él o después de él. En algunas formas de realización, el agente adicional se selecciona, sin limitaciones, del siguiente grupo: los inhibidores de las citoquinas que estimulan el sistema inmune (por ejemplo, los anticuerpos monoclonales anti-TNF-α), los agentes que eliminan las células inmunes (por ejemplo, los anticuerpos monoclonales anti-CD20), los bloqueadores de las moléculas de acceso (por ejemplo, Abatacept), los agentes que modifican las enfermedades reumáticas (por ejemplo, las drogas antiinflamatorias no

esteroidales (NSAID), el metotrexato, el ácido retinoico y los análogos de la vitamina D3) y los inmunosupresores (por ejemplo, los inhibidores de la calcineurina). En algunas formas de realización, el agente adicional se selecciona, sin limitaciones, del siguiente grupo: los agentes esteroidales, los agentes inmunomoduladores, los agentes somatostáticos, los agentes inmunoterapéuticos convencionales, las citoquinas o los antagonistas de citoquinas y/o los factores de crecimiento o los antagonistas de factores de crecimiento. En algunas formas de realización, puede usarse una terapia con anticuerpos anti-CCL20 en combinación con un tratamiento convencional contra el cáncer, tal como la quimioterapia, la cirugía o la radiación, o con otra terapia dirigida, tal como una terapia con anticuerpos anti-VEGF. En algunas formas de realización, puede emplearse una terapia con anticuerpos anti-CCL20 en combinación con un régimen profiláctico. En una forma de realización, puede administrarse un péptido sintético mimético en combinación con un anticuerpo de la presente invención. En otra forma de realización, puede administrarse una terapia con hormonas en combinación con un anticuerpo de acuerdo con la presente invención, o con una porción de este.

[0221] En una forma de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran solos o en combinación con un agente antiinflamatorio. Los agentes antiinflamatorios que pueden administrarse con los anticuerpos de la invención incluyen, sin limitaciones, los corticosteroides (por ejemplo, la betametasona, la budesonida, la cortisona, la dexametasona, la hidrocortisona, la metilprednisolona, la prednisolona, la prednisona y la triamcinolona), las drogas antiinflamatorias no

esteroidales (por ejemplo, la balsalazida, el celecoxib, el diclofenac, el diflunisal, el etodolac, el fenoprofeno, la floctafenina, el flurbiprofeno, el ibuprofeno, la indometacina, el cetoprofeno, el meclofenamato, el ácido mefenámico, el meloxicam, la nabumetona, el naproxeno, la olsalazina, la oxaprozina, la fenilbutazona, el piroxicam, el salsalato, el sulindac, el tenoxicam, el ácido tiaprofénico y la tolmetina), el acetaminofeno, los antihistamínicos, los derivados del ácido aminoarilcarboxílico, los derivados del ácido arilacético, los derivados del ácido arilbutírico, los ácidos arilcarboxílicos, los derivados del ácido arilpropiónico, los pirazoles, las pirazolonas, los derivados del ácido salicílico (por ejemplo, la sulfasalazona y la mesalamina), las tiazincarboxamidas, el ácido e-acetamidocaproico, la S-adenosilmetionina, el ácido 3-amino-4-hidroxibutírico, la amixetrina, el bendazac, la bencidamina, la bucoloma, la difenpiramida, el ditazol, la emorfazona, el guaiazuleno, la nabumetona, la nimesulida, la orgoteína, el oxaceprol, la paranilina, el perisoxal, la pifoxima, la proquazona, el proxazol y el tenidap.

[0222] Los agentes inmunosupresores no específicos convencionales que pueden administrarse en combinación con los anticuerpos de la invención incluyen, sin limitaciones, los esteroides, las ciclosporinas, los análogos de ciclosporinas, la ciclofosfamida, la metilprednisona, la prednisona, la azatioprina, FK-506, la 15-deoxispergualina, el natalizumab y otros agentes inmunosupresores que actúan suprimiendo la función de las células T que participan en las respuestas.

[0223] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en

combinación con inmunosupresores. Las preparaciones de inmunosupresores que pueden administrarse con los anticuerpos de la invención incluyen, sin limitaciones, ORTHOCLONE™ (OKT3), SANDIMMUNE™/NEORAL™/SANGDYA™ (ciclosporina), PROGRAF™ (tacrolimus), CELLCEPT™ (micofenolato), la azatioprina, los glucorticosteroides, AVONEX™ (interferón beta-1A) y RAPAMUNE™ (sirolimus). En una forma de realización, los inmunosupresores pueden usarse para prevenir el rechazo de trasplantes de órganos o de médula ósea.

[0224] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con un agente quimioterapéutico. Los agentes quimioterapéuticos que pueden administrarse con los anticuerpos de la invención incluyen, sin limitaciones, los derivados de antibióticos (por ejemplo, la doxorrubicina, la bleomicina, la daunorrubicina y la dactinomicina), los antiestrógenos (por ejemplo, el tamoxifeno), los antimetabolitos (por ejemplo, el fluorouracilo, el 5-FU, la floxuridina, el interferón alfa-2b, el ácido glutámico, la plicamicina, la mercaptopurina y la 6-tioguanina), los agentes citotóxicos (por ejemplo, la carmustina, el BCNU, la lomustina, el CCNU, el arabinósido de citosina, la ciclofosfamida, la estramustina, la hidroxiurea, la procarbazina, la mitomicina, el busulfán, el cisplatino y el sulfato de vincristina), las hormonas (por ejemplo, la medroxiprogesterona, el fosfato de estramustina de sodio, el etinil estradiol, el estradiol, la epinefrina, el acetato de megestrol, la metiltestosterona, el difosfato de dietilstilbestrol, el clorotrianiseno y la testolactona), los derivados de mostazas de

nitrógeno (por ejemplo, el mefaleno, el clorambucil, la mecloretamina (una mostaza de nitrógeno) y el tiotepa), los esteroides, las combinaciones de los anteriores (por ejemplo, el fosfato de betametasona de sodio) y otros (por ejemplo, la dicarbazina, la asparraginasa, el mitotano, el sulfato de vincristina, el sulfato de vinblastina, el rituximab y el etopósido).

[0225] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con un antagonista del TNF. Los antagonistas del TNF que pueden administrarse con los anticuerpos de acuerdo con la invención, o con las porciones de unión al antígeno de estos, incluyen, sin limitaciones, el infliximab (REMICADE™), el adalimumab (HUMIRA™), el certolizumab pegol (CIMZIA™), el golimumab (SIMPONI™), el etanercept (ENBREL™), los derivados de xantina (por ejemplo, la pentoxifilina) y el bupropión (WELLBURTIN™, ZYBAN™).

[0226] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran solos o en combinación con una o más preparaciones de inmunoglobulinas intravenosas. Las preparaciones de inmunoglobulinas intravenosas que pueden administrarse con los anticuerpos de acuerdo con la invención, o con las porciones de estos, incluyen, sin limitaciones, GAMMAR™, IVEEGAM™, SANDOGLOBULIN™, GAMMAGARD S/D™ y GAMIMUNE™. En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con preparaciones de inmunoglobulinas intravenosas en la terapia de los trasplantes (que por ejemplo, pueden ser

trasplantes de médula ósea).

[0227] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con citoquinas o con antagonistas de citoquinas. En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, pueden administrarse con cualquier citoquina o con cualquier antagonista de citoquinas, lo que abarca, sin limitaciones, la IL2, la IL3, la IL4, la IL5, la IL6, la IL7, la IL10, la IL12, la IL13, la IL15, los anticuerpos anti-CD40, CD40L, el IFN-γ y el TNF-α, o cualquier antagonista de estos. En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, pueden administrarse con cualquier interleuquina o con cualquier antagonista de interleuquinas, lo que abarca, sin limitaciones, la IL-1alfa, la IL-1beta, la IL-2, la IL-3, la IL-4, la IL-5, la IL-6, la IL-7, la IL-8, la IL-9, la IL-10, la IL-11, la IL-12, la IL-13, la IL-14, la IL-15, la IL-16, la IL-17, la IL-18, la IL-19, la IL-20 y la IL-21, o cualquier antagonista de estas.

[0228] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con una o más quimioquinas o antagonistas de quimioquinas. En formas de realización específicas, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con una quimioquina del tipo α(CxC), que se selecciona del grupo que consiste en la proteína inducible por el interferón gamma 10 (γIP-10), la interleuquina 8 (IL-8), el factor de las plaquetas 4 (PF4), la proteína activadora de los neutrófilos (NAP-2),

GRO-α, GRO-β, GRO-γ, el péptido activador de los neutrófilos (ENA-78), la proteína quimioatractante de los granulocitos 2 (GCP-2) y el factor derivado de las células del estroma 1 (SDF-1, que también se conoce como el factor estimulador preliminar de las células B (PBSF)); con una quimioquina del tipo β(CC), que se selecciona del grupo que consiste en RANTES (el factor que se expresa y se secreta en las células T normales y que está regulado por la activación), la proteína inflamatoria de los macrófagos 1 alfa (MIP-1α), la proteína inflamatoria de los macrófagos 1 beta (MIP-1β), la proteína quimiotáctica de los monocitos 1 (MCP-1), la proteína quimiotáctica de los monocitos 2 (MCP-2), la proteína quimiotáctica de los monocitos 3 (MCP-3), la proteína quimiotáctica de los monocitos 4 (MCP-4) la proteína inflamatoria de los macrófagos 1 gamma (MIP-1γ), la proteína inflamatoria de los macrófagos 3 alfa (MIP-3α), la proteína inflamatoria de los macrófagos 3 beta (MIP-3β), la proteína inflamatoria de los macrófagos 4 (MIP-4/DC-CK-1/PARC), la eotaxina, Exodus e I-309; y/o con una quimioquina del tipo γ(C), tal como la linfotactina; o con cualquier antagonista de las anteriores.

[0229] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran con la quimioquina beta 8, con la quimioquina beta 1 y/o con la proteína inflamatoria de los macrófagos 4, o con cualquier antagonista de ellas. En una forma de realización preferida, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran con la quimioquina beta 8 o con un antagonista de esta.

[0230] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con un antagonista de la IL-4. Los antagonistas de la IL-4 que pueden administrarse con los anticuerpos y las composiciones de anticuerpos de la invención incluyen, sin limitaciones, los polipéptidos que son receptores solubles de IL-4, las formas multiméricas de los polipéptidos que son receptores solubles de IL-4; los anticuerpos contra los receptores de IL-4, que se unen a los receptores de IL-4 sin transducir la señal biológica que es provocada por los receptores de IL-4, los anticuerpos anti-IL4, que bloquean la unión de la IL-4 a uno o más receptores de IL-4, y las muteínas de la IL-4, que se unen a los receptores de IL-4 pero no transducen la señal biológica provocada por IL-4. Preferiblemente, los anticuerpos anti-IL4 que se emplean de acuerdo con este método son anticuerpos monoclonales, aunque también pueden emplearse porciones de unión al antígeno de estos.

[0231] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con miembros de la familia del TNF, o con antagonistas de estos. En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, se administran en combinación con agentes que incluyen, sin limitaciones, las formas solubles del TNF-α, la linfotoxina-alfa (LT-alfa, que también se conoce como TNF-beta), la LT-beta (que se halla en el complejo heterotrimérico LT-alfa2-beta), OPGL, FasL, CD27L, CD30L, CD40L, 4-1BBL, DcR3, OX40L, el TNF-gamma (Publicación Internacional

n.º WO 96/14328), AIM-I (Publicación Internacional n.º WO 97/33899), la endoquina-alfa (Publicación Internacional n.º WO 98/07880), OPG, la neutroquina-alfa (Publicación Internacional n.º WO 98/18921), OX40, el factor de crecimiento de los nervios (NGF), las formas solubles de Fas, CD30, CD27, CD40 4-IBB, TR2 (Publicación Internacional n.º WO 96/34095), DR3 (Publicación Internacional n.º WO 97/33904), DR4 (Publicación Internacional n.º WO 98/32856), TR5 (Publicación Internacional n.º WO 98/30693), TR6 (Publicación Internacional n.º WO 98/30694), TR7 (Publicación Internacional n.º WO 98/41629), TRANK, TR9 (Publicación Internacional n.º WO 98/56892), TR10 (Publicación Internacional n.º WO 98/54202), 312C2 (Publicación Internacional n.º WO 98/06842), TR12, las formas solubles de CD154, CD70 y CD153, o bien con cualquier antagonista de estos.

[0232] Tal como se lo emplea en la presente, el término "cantidad eficaz para el uso terapéutico" hace referencia a una cantidad del agente terapéutico administrado que sirve para aliviar o prevenir en una medida determinada uno o más de los síntomas del trastorno que se desea tratar. En el contexto del tratamiento de una enfermedad, una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CCL20, o de una porción de unión al antígeno de este, es una cantidad que ayuda al sujeto tratado a alcanzar uno o más de los objetivos deseados.

[0233] En algunas formas de realización, con el propósito de minimizar la inmunogenicidad, se usa un anticuerpo humanizado, o una porción de este, un método terapéutico o una composición de acuerdo con la presente invención para tratar un paciente humano. En aquellos casos donde no es necesaria una

administración repetitiva, también puede resultar apropiado administrarle un anticuerpo de ratón o quimérico de acuerdo con la invención, o una porción de este, a un paciente humano.

[0234] En algunas formas de realización, los anticuerpos de acuerdo con la invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, pueden usarse para tratar un individuo que ha sido tratado con antelación, por ejemplo, con inhibidores de las citoquinas que estimulan el sistema inmune (por ejemplo, anticuerpos monoclonales anti-TNF-α), con agentes que eliminan las células inmunes (por ejemplo, anticuerpos monoclonales anti-CD20) y/o con bloqueadores de las moléculas de acceso (por ejemplo, Abatacept). En algunas formas de realización, los anticuerpos, o las porciones de estos, se usan para tratar un paciente que presenta una respuesta nula o disminuida a otros tratamientos.

[0235] El anticuerpo de acuerdo con la invención, o la porción de unión al antígeno de este, puede administrarse en una o múltiples dosis, en cualquier punto de tiempo que sea considerado apropiado por el proveedor de cuidado para la salud. La dosis puede determinarse con métodos conocidos en la técnica, y puede depender, por ejemplo, de la edad, la sensibilidad, la tolerancia y la salud general del individuo. Con los anticuerpos de acuerdo con la invención, o con las porciones de estos, puede emplearse cualquier método de administración aceptado en la técnica, lo que abarca, sin limitaciones, la administración parenteral (por ejemplo, la inyección intravenosa, intraarterial, intramuscular, intratecal, intraperitoneal o subcutánea), oral (por ejemplo, a través de la dieta), local, tópica, por inhalación (por ejemplo, por inhalación intrabronquial, intranasal u oral o a

través de gotas intranasales) o rectal, dependiendo de la enfermedad o la afección que se desea tratar. En una forma de realización, el anticuerpo, o la porción de este, se administra por vía parenteral.

[0236] La formulación variará de acuerdo con la ruta de administración que se seleccione (por ejemplo, una solución, una emulsión). Una composición apropiada que comprende el anticuerpo que se desea administrar, o una porción de este, puede prepararse en un vehículo o un transporte aceptable para aplicaciones fisiológicas. La composición puede comprender múltiples dosis o puede ser una sola dosis. En el contexto de las soluciones o las emulsiones, los vehículos apropiados incluyen, por ejemplo, las soluciones, las emulsiones o las suspensiones basadas en agua o en alcohol, que pueden incluir medios salinos y amortiguados. Los vehículos parenterales pueden incluir la solución de cloruro de sodio, la dextrosa de Ringer, la dextrosa con cloruro de sodio, la solución de Ringer con lactosa o los aceites fijos. Los vehículos intravenosos pueden incluir diversos aditivos, conservantes, fluidos, nutrientes o electrolitos (véase en general *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17ª edición, Mack Publishing Co., PA, 1985). En el contexto de la inhalación, el compuesto puede disolverse y cargarse en un dispositivo apropiado para la administración (por ejemplo, un atomizador, un nebulizador o un dispositivo a presión para administrar un aerosol).

[0237] Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proveer la respuesta óptima deseada. En determinadas formas de realización, puede administrarse un único bolo, pueden administrarse varias dosis divididas con el correr del tiempo o puede reducirse o incrementarse proporcionalmente la dosis sobre la base de las

exigencias de la situación terapéutica. Resulta especialmente ventajoso formular las composiciones parenterales en formas de dosificación individuales para simplificar la administración y obtener una dosificación uniforme. Las formas de dosificación individuales, tal como se las emplea en la presente, hacen referencia a unidades físicamente discretas que son apropiadas como dosis individuales para los pacientes/sujetos que se desea tratar. Cada una de ellas contiene una cantidad predeterminada del compuesto activo, que ha sido calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en combinación con el vehículo farmacéutico necesario. Las especificaciones de las formas de dosificación individuales de la invención generalmente están determinadas por los siguientes factores, y dependen de ellos: (a) las características únicas del agente terapéutico y el efecto terapéutico o profiláctico particular que se desea obtener; y (b) las limitaciones asociadas a la sensibilidad que presentan los individuos al compuesto activo, que son conocidas en la técnica.

[0238] Por consiguiente, sobre la base de la descripción que se provee en la presente, aquellos versados en la técnica han de apreciar que es posible ajustar la dosis y el régimen de dosificación con métodos bien conocidos. Vale decir, la dosis máxima tolerada, la cantidad eficaz y los requerimientos temporales para administrar cada agente, con el propósito de obtener un beneficio terapéutico detectable en un paciente particular, pueden ser determinados con facilidad. Como consecuencia, si bien en la presente se proveen ejemplos de dosis y regímenes de administración, estos ejemplos no han de ser interpretados de una manera limitativa para la práctica de la presente invención.

[0239] Vale destacar que los valores de las dosis pueden variar con el tipo y la severidad de la afección que se desea aliviar, y que las dosis pueden administrarse completas o divididas. También ha de comprenderse que, para un sujeto particular, es necesario ajustar el régimen de dosificación específico con el correr del tiempo, sobre la base de las necesidades del individuo y el juicio profesional de la persona que administra las composiciones o que supervisa su administración, y que los rangos de dosificación que se detallan en la presente se proveen solamente a modo de ejemplo, sin el propósito de limitar el alcance o la práctica de la invención. Además, el régimen de dosificación donde se emplean las composiciones de esta invención puede basarse en diversos factores, que incluyen el tipo de enfermedad, la edad, el peso, el sexo y la condición médica del paciente, la severidad de la afección, la ruta de administración y el anticuerpo particular empleado. Por ende, el régimen de dosificación puede variar ampliamente, pero puede ser determinado sin dificultad usando métodos convencionales. Por ejemplo, las dosis pueden ajustarse sobre la base de parámetros farmacocinéticos o farmacodinámicos, que pueden incluir los efectos clínicos, tales como los efectos tóxicos y/o los valores que se determinan en el laboratorio. Por lo tanto, la presente invención abarca los incrementos de las dosis para los pacientes que puedan considerar necesarios aquellos versados en la técnica. Los métodos para determinar las dosis y los regímenes apropiados han de resultar conocida para aquellos versados en la técnica, especialmente al tener en cuenta el contenido de la presente.

[0240] En algunas formas de realización, en el contexto de la administración a un

sujeto humano, la dosis mensual total de los anticuerpos o las porciones de anticuerpos de la invención se encuentra en el rango de entre 0,5 y 1200 mg por paciente, lo que evidentemente depende del modo de administración. En determinadas formas de realización, para una dosis intravenosa mensual son necesarios aproximadamente 1-1000 mg/paciente. La dosis mensual total puede administrarse en una o más ocasiones, y de acuerdo con el criterio del médico, puede hallarse fuera del rango típico que se mencionó con anterioridad.

[0241] En determinadas formas de realización, un rango para una cantidad eficaz para el uso terapéutico o profiláctico de un anticuerpo o una porción de anticuerpo de la invención es de entre 1 y 1000 mg/kg/paciente/mes. En una forma de realización, el anticuerpo de acuerdo con la invención, o la porción de este, puede administrarse en una cantidad aproximada de entre 1 y 200 o entre 1 y 150 mg/paciente/mes. En determinadas formas de realización, el anticuerpo, o la porción de este, se administra por inyección en una cantidad de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg/kg/paciente, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces por mes. En una forma de realización particular, el anticuerpo, o la porción de este, se administra por inyección en una cantidad de entre 1 y 5 mg/kg/paciente, 1 o 2 veces por mes.

[0242] Los anticuerpos de acuerdo con la invención, y las porciones de unión al antígeno de estos, también son útiles en una variedad de procesos, con aplicaciones en la investigación y en el diagnóstico. En algunas formas de realización, los anticuerpos y las porciones de estos se emplean para detectar, aislar y/o purificar CCL20 humano o variantes de este (para lo cual puede recurrirse, por ejemplo, a una purificación por afinidad o a otros métodos

apropiados, tales como la citometría de flujo, por ejemplo, para las células en suspensión, que pueden ser linfocitos) y para estudiar la estructura (por ejemplo, la conformación) y la función de CCL20 humano. En el contexto de las aplicaciones *in vitro*, cuando la inmunogenicidad del anticuerpo no es un problema, además de los anticuerpos humanizados, pueden resultar útiles los anticuerpos de ratón y quiméricos de acuerdo con la invención, así como las porciones de unión al antígeno de estos.

[0243] Los anticuerpos de acuerdo con la presente invención, o las porciones de unión al antígeno de estos, pueden usarse en aplicaciones de diagnóstico (por ejemplo, *in vitro* o *ex vivo*). En algunas formas de realización, los anticuerpos humanizados de acuerdo con la presente invención, o las porciones de estos, se usan para detectar y/o medir el nivel de CCL20 humano en una muestra. En determinadas formas de realización, la muestra comprende, por ejemplo, células o tejidos donde se expresa CCL20 humano, y/o fluidos corporales, que pueden ser exudados inflamatorios, sangre, suero y/o fluido intestinal que comprende CCL20 humano. La muestra puede obtenerse de un individuo, y a partir de ella puede aislarse un anticuerpo como los que se describen en la presente, o una porción de este, que puede ser apropiado para usarlo en un método inmunológico para detectar y/o medir la expresión de CCL20 humano. Los métodos apropiados incluyen la citometría de flujo (por ejemplo, para las células en suspensión, tales como los linfocitos) y los ensayos inmunosorbentes ligados a enzimas (ELISA), por ejemplo, los ensayos con quimioluminiscencia, los radioinmunoensayos y los análisis inmunohistológicos.

[0244] En una forma de realización, un método para detectar CCL20 humano en una muestra comprende poner en contacto la muestra con un anticuerpo de acuerdo con la invención, o con porción de este, bajo condiciones apropiadas para que ocurra la unión específica entre el anticuerpo, o la porción de este, y CCL20 humano, y detectar los complejos que se forman con el anticuerpo y CCL20. En una forma de realización, los anticuerpos que se describen en la presente, o las porciones de estos, pueden usarse para comparar la reactividad y/o la expresión de CCL20 humano en tejidos normales y en tejidos inflamados (por ejemplo, de un ser humano). Esta comparación puede llevarse a cabo, por ejemplo, por medios inmunohistológicos, y puede servir para detectar la relación entre la expresión incrementada de CCL20 humano (por ejemplo, en los tejidos afectados) y uno o más trastornos, los cuales pueden seleccionarse, sin limitaciones, entre la enfermedad de Graves, el vitíligo, el hipertiroidismo, la artritis reumática, la psoriasis, la dermatitis atópica, la dermatitis de contacto, la enfermedad de Crohn, la enfermedad intestinal inflamatoria, las afecciones malignas de las células B, el adenocarcinoma de mama, la hepatitis crónica, el glioblastoma, el carcinoma hepatocelular, las infecciones de papilomavirus humanos en el cuello uterino, las micosis fungoides, el adenocarcinoma pancreático, la enfermedad periodontal, el carcinoma papilar en la tiroides, la pustulosis en las palmas y en las plantas de los pies, las afecciones relacionadas con el exantema maculopapular, la epidermólisis bulbosa, la alopecia areata, la esclerosis múltiple, la polimiositis, la dermatomiositis, la enfermedad de Behcet, la pustulosis exantematosa generalizada aguda, los vasculítidos, la artritis idiopática juvenil, la sarcoidosis, el

asma bronquial, la rinitis alérgica, el rechazo de aloinjertos renales, la enfermedad del injerto contra el huésped, el rechazo de aloinjertos hepáticos, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la fibrosis quística, la glomerulonefritis, las infecciones del virus sincicial respiratorio, el mieloma múltiple, la histiocitosis en las células de Langerhans u otras afecciones. Por lo tanto, con los anticuerpos de la presente invención pueden ponerse en práctica métodos inmunológicos para determinar la presencia de CCL20 humano en tejidos normales o inflamados, con lo cual puede analizarse la presencia de la enfermedad, el progreso de la enfermedad y/o la eficacia de una terapia con anticuerpos anti-CCL20 en el tratamiento de la enfermedad, que puede ser, por ejemplo, una enfermedad inflamatoria y/o inmune.

[0245] Los métodos y los procedimientos que se describen en la presente invención generalmente se ponen en práctica de maneras convencionales, conocidas en la técnica, tal como se describe en las diversas referencias generales y más específicas que se citan y se detallan en esta memoria descriptiva, a menos que se indique lo contrario. Véanse, por ejemplo, Sambrook J. & Russell D. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2000); Ausubel *et al.*, *Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley, John & Sons, Inc. (2002); Harlow y Lane *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1998); y Coligan *et al.*, *Short Protocols in Protein Science*, Wiley, John & Sons, Inc. (2003). Las reacciones con enzimas y las técnicas de purificación se ponen en práctica de acuerdo con las especificaciones del fabricante, de maneras conocidas en la técnica o según se describe en la presente. La nomenclatura que se usa en la presente, en el contexto de los

procedimientos y las técnicas de laboratorio, de química analítica, de síntesis química orgánica y de química medicinal y farmacéutica es la nomenclatura convencional, por lo que ha de resultar conocida para aquellos versados en la técnica.

[0246] A menos que se los defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos que se emplean en la presente tienen los significados que comúnmente les dan aquellos versados en la técnica a los que concierne esta invención. Más adelante se proveen ejemplos de métodos y materiales, aunque también pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los que se describen en la presente para poner en práctica o evaluar la presente invención. Todas las publicaciones y las otras referencias que se mencionan en la presente se incorporan a modo de referencia en su totalidad. En el caso en que haya un conflicto, esta memoria descriptiva, incluyendo las definiciones, ha de servir como control. Aunque en la presente se citan diversos documentos, las citas no constituyen una admisión de que cualquiera de ellos forme parte del conocimiento general en la técnica. En esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones, el término "comprender" y sus variaciones, tales como "comprende" o "que comprende", han de interpretarse como términos que denotan la inclusión de elementos individuales o en grupos, pero que no excluyen otros elementos individuales o en grupos. Los materiales, los métodos y los ejemplos se proveen solamente con fines ilustrativos, por lo que no han de ser interpretados de manera limitativa.

[0247] Los ejemplos a continuación se proveen con el objeto de facilitar la comprensión de la invención. Estos ejemplos se proveen solamente con fines

ilustrativos, por lo que no han de ser interpretados como una limitación para el alcance de la invención.

Ejemplo 1. Participación de CCL20 en los trastornos autoinmunes e inflamatorios

[0248] Para obtener evidencias de la participación de CCL20 en las afecciones autoinmunes e inflamatorias, se estudiaron los efectos del knockout de CCR6, el receptor de CCL20, en un modelo de artritis reumática (RA) tipo II inducida con colágeno (CIA) en ratones. Se inmunizaron 10 ratones salvajes CCR6, 10 ratones que habían sido sometidos a un knockout $CCR6^{+/-}$ (heterocigotas) y 10 ratones que habían sido sometidos a un knockout $CCR6^{-/-}$ (homocigotas). Para ello, se los inyectó en la base de la cola con colágeno bovino tipo II (a razón de 150 µg/ratón) emulsionado en el coadyuvante completo de Freund (Chondrex, n.º 7001). Tres semanas más tarde, en la base de la cola se aplicó una inyección de refuerzo con la misma cantidad de la emulsión de colágeno bovino tipo II en un coadyuvante incompleto. Se calificó la severidad de los síntomas de la artritis en las patas de cada ratón, según se describe en Griswold *et al.*, *Arthritis & Rheumatism* 31(11):1406-1412 (1988). En resumen, se calificaron las lesiones en las articulaciones distales de las extremidades, es decir, en los codos o en las rodillas, con una escala entre 0 y 4, sobre la base de la cantidad de articulaciones comprometidas y el grado de eritema e hinchazón. Las calificaciones de la artritis se calcularon como la suma de las calificaciones de las cuatro patas de cada animal. Los animales salvajes CCR6 desarrollaron artritis, mientras que los

animales $CCR6^{-/-}$ presentaron una resistencia notable a la enfermedad (figura 1). Vale destacar que los animales $CCR6^{+/-}$ también presentaron resistencia en un cierto nivel, lo que refleja que no es necesario anular por completo la función de CCL20 para contrarrestar el fenotipo artrítico.

[0249] Además, se llevó a cabo un análisis inmunohistoquímico en las patas traseras de los ratones para determinar la presencia de células T positivas para CD3 o de macrófagos positivos para F4/80. El día 43, se sacrificaron los ratones y se fijaron sus patas traseras en formalina. Posteriormente, las patas se cortaron en secciones, las cuales se colocaron en portaobjetos. Después de descalcificar las muestras de las patas, se sometieron los portaobjetos a una coloración inmunohistoquímica con anticuerpos contra CD3 (n.º N1580, DAKO) y contra F4/80 (el clon CI:A3-1, AbD Serotec). La intensidad de la coloración fue calificada por dos observadores independientes, que analizaron las muestras con un instrumento Aperio (Aperio Technologies). A continuación, se proveen detalles de la calificación: 0 representa un fenotipo normal; 1 representa una coloración tenue en la pata o una coloración intensa en un dígito; 2 representa una coloración moderada en múltiples dígitos; 3 representa una coloración intensa en múltiples dígitos o una coloración moderada en la pata; 4 representa una coloración intensa en todos los dígitos y en la pata. La cantidad de células T (figura 2) y macrófagos (figura 3) infiltrados en las lesiones propias de la artritis inducida con colágeno fue notablemente menor en los ratones $CCR6^{+/-}$ y $CCR6^{-/-}$.

[0250] También se estudiaron los efectos del knockout de CCR6 en un modelo de dermatitis de contacto alérgica inducida con dinitrofluorobenceno (DNFB). Se sensibilizaron dos grupos de seis ratones cada uno (un grupo de ratones salvajes

para CCR6 y un grupo de ratones con deficiencias en CCR6) aplicando 25 µl de una solución de DNFB al 0,4 % (en una mezcla 4:1 de acetona y aceite de oliva) con un pincel en el abdomen afeitado, durante dos días consecutivos (los días 0 y 1). El día 5, los ratones fueron atacados nuevamente: se les aplicaron 20 µl de una solución de DNFB al 0,4 % (en una mezcla 4:1 de acetona y aceite de oliva) en un lado de una oreja. Como indicador del edema, se determinó el grosor de la oreja con un calibre antes del ataque con DNFB y 24 horas después del último ataque, el día 5. Los ratones con deficiencias en CCR6 presentaron orejas con un grosor prácticamente inalterado después del tratamiento con DNFB, lo que es indicativo de la resistencia a la hipersensibilidad de contacto inducida por el DNFB (figura 4).

[0251] Con estos datos, puede fundamentarse la participación de CCR6 y CCL20 en los trastornos autoinmunes e inflamatorios.

Ejemplo 2. Inhibición de la quimiotaxis inducida por CCL20 con el anticuerpo monoclonal de hámster anti-CCL20 de ratón 2F5-5

[0252] Para analizar en detalle la función de CCL20 como blanco terapéutico potencial, se llevaron a cabo experimentos con un anticuerpo de hámster anti-CCL20 de ratón (2F5-5). Primero, se caracterizó la capacidad del anticuerpo monoclonal 2F5-5 de unirse a CCL20 de ratón, humano y de macaco Rhesus. Se prepararon antígenos CCL20 solubles con una fosfatasa alcalina secretada (SEAP) de cada especie como se describe a continuación. Se amplificó el ADNc que codificaba CCL20 de humano, de mono cangrejero, de macaco Rhesus, de rata y de ratón y se lo subclonó en un vector pcDNA3.1 (+) dSalI con SEAP, que contenía el ADNc de SEAP y carecía del sitio para SalI (el vector pcDNA 3.1 (+) se adquirió en Invitrogen; el ADNc de SEAP provino de un vector pSEAP con un potenciador, de Clontech). Los vectores de expresión se transfectaron en células de la línea de células de riñón embrionario humano HEK293EBNA (HEK293E,

Invitrogen). Las células HEK293E se inocularon con DMEM (Invitrogen) con la adición de 10 % de suero fetal bovino el día previo a la transfección. El día de la transfección, se reemplazó el medio de cultivo por un medio libre de suero OPTI-MEM II (Invitrogen). Los vectores de expresión se transfectaron usando TransIT LT1 (TAKARA Bio Inc., Shiga, Japón), de acuerdo con el protocolo del fabricante. Después de 3 días de incubación con 5 % de CO_2 y a 37°C, se cosecharon los sobrenadantes del cultivo. La concentración de CCL20-SEAP en cada cultivo se determinó usando el conjunto de elementos de quimioluminiscencia para SEAP Great EscAPe 2.0 (Clontech).

[0253] Posteriormente, se llevaron a cabo análisis de resonancia de plasmón superficial (Biacore™) para medir la unión del anticuerpo monoclonal 2F5-5 a los antígenos CCL20-SEAP de ratón, humanos, de macaco Rhesus y de mono cangrejero. Se inmovilizó un anticuerpo monoclonal anti-SEAP (con una fosfatasa alcalina placentaria de ratón anti-humana, Thermo Scientific, cat. n.º MAI-19354, lote n.º KL12748M) en un chip sensor CM5 (GE Healthcare), usando un procedimiento de unión con NHS/EDC amina convencional. Se diluyó CCL20 de ratón marcado con SEAP (en una concentración de 100 nM en el sobrenadante, ID735, lote n.º 091130) hasta alcanzar una concentración de 5 nM, con TBS-P que contenía 0,005 % de Tween-20, y se lo capturó en el chip sensor CM5. En el chip sensor, se inyectaron diluciones del anticuerpo de hámster anti-CCL20 de ratón (2F5-5, lote n.º 060215, 2 mg/ml) en TBS-P, con concentraciones que variaron entre 0,2 nM y 80 nM y con una velocidad de flujo de 30 µl/minuto. Se monitoreó la asociación y la disociación del anticuerpo de hámster anti-CCL20 de ratón con CCL20 de ratón durante 4 minutos o durante 16 minutos, respectivamente. Entre las inyecciones, la superficie del chip se regeneró usando glicina 10 mM a un pH de 2,25. En los sensogramas, se emplearon dos referencias: a los valores que se obtuvieron usando los anticuerpos de hámster anti-CCL20 de ratón, se les

sustrajeron los valores que se obtuvieron con una célula de referencia, sin CCL20 de ratón, y los valores que se obtuvieron cuando se inyectó TBS-P sobre CCL20 de ratón inmovilizado. Los sensogramas se analizaron usando un modelo de unión 1:1 de Langmuir, con el software BIAevaluation (GE Healthcare, versión 3.2). En este ensayo, el anticuerpo monoclonal 2F5-5 se unió a CCL20 de ratón con una afinidad de 32 pM, pero no se unió a CCL20 humano, de macaco Rhesus o de mono cangrejero (tabla 1).

Tabla 1. Afinidad de unión del anticuerpo monoclonal 2F5-5 por los ortólogos de CCL20

Ortólogo de CCL20	k_a (x 10^5 M^{-1}segundo^{-1})	k_d (x 10^{-5} segundo^{-1})	K_D (x 10^{-11} M)
De ratón	9,63	0,474	0,492
Humano	No detectable	No detectable	No detectable
De macaco Rhesus	No detectable	No detectable	No detectable
De mono cangrejero	No detectable	No detectable	No detectable

[0254] Para evaluar el efecto del anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre la función de CCL20, se evaluó su actividad de neutralización sobre CCL20 de ratón usando un ensayo de quimiotaxis *in vitro*. Se colocaron células B300.19 que habían sido transducidas con CCR6 y CCL20 de ratón recombinante (1 nM) en placas de cultivo con cavidades transparentes. Cuatro horas más tarde, se contaron las células que habían migrado a la recámara inferior con un procedimiento de calificación de las células activadas con fluorescencia (FACS). El anticuerpo monoclonal 2F5-5 inhibió por completo la quimiotaxis en una concentración de 1 µg/ml, con un valor estimado de la IC_{50} de 0,04 µg/ml (0,27 nM; figura 5). En contraste, un anticuerpo de hámster control (10 µg/ml) no inhibió la quimiotaxis

(100 % con relación al control; datos no presentados).

Ejemplo 3. Humanización de anticuerpos monoclonales de ratón anti-CCL20

[0255] Para obtener anticuerpos monoclonales contra CCL20 humano, se generó un panel de anticuerpos anti-CCL20 humano de ratón. Se inyectó CCL20 humano recombinante (R&D, n.º 360-MP-025/CF, a razón de 17,5 µg/cabeza) emulsionado con el coadyuvante completo de Freund (Mitsubishi-Kagaku Yatron, RM606-1) por vía subcutánea en las plantas de las patas de los ratones. Se administraron dos inyecciones consecutivas cada tres días. Tres días después de la inmunización final, se sacrificaron los animales y se fusionaron células de los nodos linfáticos inguinales con células de mieloma P3U1, con una proporción de entre 2:1 y 10:1, en presencia de polietilenglicol al 50 %. Luego se cultivaron las células en placas de plástico de 96 cavidades.

[0256] Se empleó un ELISA en sándwich para realizar el análisis primario. Se recubrió una placa de 96 cavidades con un anticuerpo policlonal anti-IgG humana (Jackson, n.º 709-005-149, con una concentración de 2 µg/ml en PBS (-)). Después de incubar durante la noche a 4ºC, se bloquearon las cavidades con Block-Ace 1x (Dainippon Sumitomo Pharma, UK-B80), durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego se lavaron las cavidades con Tween 20/PBS (-) al 0,02 % y se agregó una proteína quimérica con CCL20 humano y la región Fc de la IgG humana, en una concentración de 1 nM en Tween 20/PBS (-) al 0,02 %, a las cavidades (a razón de 50 µl/cavidad). Después de incubar durante una hora a temperatura ambiente, se realizaron tres lavados adicionales como se describió con anterioridad. Se diluyeron los sobrenadantes de los cultivos de cada hibridoma al medio con FBS al 20 %, se agregaron 200 µg/ml de IgG humana (Mitsubishi Welpharma) en Tween 20/PBS (-) al 0,02 % a las cavidades y se incubó durante

una hora a temperatura ambiente. Una vez realizados tres lavados adicionales, se incubaron las cavidades con un anticuerpo anti-IgG de ratón conjugado con peroxidasa de rábano picante (Jackson, n.º 715-035-150, en una dilución al 5000º con Tween 20/PBS (-) al 0,02 %) durante una hora a temperatura ambiente. Se lavaron las cavidades en tres ocasiones y se incubó en una solución de TMBZ (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) durante 15-30 minutos. Se agregó un volumen idéntico de H_2SO_4 2 M para detener la reacción y se leyó la densidad óptica a 450 nm con un dispositivo ARVO (PerkinElmer). Con el ELISA en sándwich, fue posible identificar 24 cavidades positivas.

[0257] Después, se llevó a cabo un ensayo de quimiotaxis como análisis secundario. El ensayo de quimiotaxis se realizó en placas de cultivo con cavidades transparentes (que eran placas MultiScreen con poros 5 µm, de Millipore, n.º MAMIC 5S10). Primero, se preincubaron 50 µl/cavidad de CCL20 humano recombinante, en una concentración de 300 ng/ml (R&D, n.º 360-MP-025/CF) en el amortiguador de quimiotaxis (que comprendía 0,5 % de BSA, 0,5 % de FBS, HEPES 20 mM, pH 7,4, y 2-mercaptoetanol 50 µM en RPMI1640 (Invitrogen)), con 100 µl/cavidad de los sobrenadantes del cultivo de los hibridomas, a temperatura ambiente durante 30 minutos (hasta alcanzar una concentración final de CCL20 de 100 ng/ml), en las cavidades inferiores de las placas. Después de 30 minutos, se aplicaron células B300.19 que habían sido transfectadas con CCR6 humano (SEQ ID N.º 104; 2 x 10^5 células/75 µl) sobre las cavidades superiores y se incubó en una incubadora con 5 % de CO_2, a 37ºC durante 4 horas. Después de la incubación, se tomaron 150 µl las cavidades inferiores y se los fijó con 50 µl de PFA/PBS (-) al 4 %. Se colocaron muestras de 30 µl de cada cavidad en un analizador de células FACSCantoII (BD Biosciences) para contar las células que habían migrado. Se determinó la presencia de actividad de neutralización en cuatro cavidades.

[0258] Luego se usó una dilución limitativa convencional para obtener clones de hibridomas de las cuatro cavidades positivas. Con el ensayo de quimiotaxis *in vitro*, se confirmó la presencia de actividad de neutralización en el sobrenadante de cada clon. Tres de los anticuerpos monoclonales de ratón anti-CCL20 humano que fueron producidos por estos clones (los anticuerpos 36F7C10 (tabla 2), 42G5B10 (tabla 3) y 40-1C10B9 (tabla 4)) presentaron actividad de neutralización contra CCL20 humano.

Tabla 2. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de 36F7C10

Descripción	Secuencia
Secuencia señal de la cadena pesada (aminoácidos; SEQ ID N.º 33)	MRWSCIILFLVATATGVNS
Secuencia señal de la cadena liviana (aminoácidos; SEQ ID N.º 34)	MGVPTQLLLLWLTVVVVRC
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 39)	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFT NYWMHWVKQRPGQGLEWIGVIDPSDSYTTY NQKFKGKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDS AVYYCTRGNYGVDYAMDYWGQGTSVTVSS
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 40)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCGASENIYGA LNWYQRKQGKSPQLLIYGATNLADGMSSRF SGSGSGRQYSLKISSLHPDDVATYYCQNVLIT PYTFGGGTKLEIK
Secuencia señal de la cadena pesada (nucleótidos; SEQ ID N.º 45)	ATGAGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTG GTAGCAACAGCTACAGGTGTCAACTCC
Secuencia señal de la cadena liviana (nucleótidos; SEQ ID N.º 46)	ATGGGTGTACCCACTCAGCTCCTGTTGCTG TGGCTTACAGTCGTAGTTGTCAGATGT
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 51)	CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGA GCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGA TGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCA CCAACTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAG AGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATCGG AGTGATTGATCCTTCTGATAGTTATACTACC TACAATCAAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACA TTGACTGTAGACACATCCTCCAGCACAGCC TACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAG GACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGAGGT AACTACGGAGTAGACTATGCTATGGACTAC TGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTC CTCG
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 52)	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCTTCA CTGTCTGCATCTGTGGGAGAAACTGTCACC

	ATCACATGTGGAGCAAGTGAGAATATTTAC GGTGCTTTAAATTGGTATCAGCGGAAACAG GGAAAATCTCCTCAGCTCCTGATCTATGGT GCAACCAACTTGGCAGATGGCATGTCATCG AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGTAGACA GTATTCTCTCAAGATCAGTAGCCTGCATCC TGACGATGTTGCAACGTATTACTGTCAAAAT GTGTTAATTACTCCGTACACGTTCGGAGGG GGGACCAAGCTGGAAATAAAA

Tabla 3. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de 42G5B10

Descripción	Secuencia
Secuencia señal de la cadena pesada (aminoácidos; SEQ ID N.º 37)	MRWSCIILFLVATATGVNS
Secuencia señal de la cadena liviana (aminoácidos; SEQ ID N.º 38)	MGVPTQLLLLWLTVVVVRC
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 43)	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFT SYWMHWVKQRPGQGLEWIGLIDPSDKYTNY NQKFKGKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDS AVYYCTRGNYGVDYGMDYWGQGTSVTVSS
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 44)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCGASENIYGA LNWYQRKQGKSPQLLIYGATNLADGMSSRF SGSGSGRQYSLKISSLHPDDVATYYCQNVLS TPYTFGGGTKLEIK
Secuencia señal de la cadena pesada (nucleótidos; SEQ ID N.º 49)	ATGAGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTG GTAGCAACAGCTACAGGTGTCAACTCC
Secuencia señal de la cadena liviana (nucleótidos; SEQ ID N.º 50)	ATGGGTGTACCCACTCAGCTCCTGTTGCTG TGGCTTACAGTCGTAGTTGTCAGATGT
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 55)	CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGA GCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGA TGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCA CCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAG AGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATCGG ACTGATTGATCCTTCTGATAAGTATACTAAC TACAATCAAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACA TTGACTGTAGACACATCCTCCAGCACAGCC TACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAG GACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGAGGT AACTACGGAGTAGACTATGGTATGGACTAC TGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTC CTCA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 56)	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCTTCA CTGTCTGCATCTGTGGGAGAAACTGTCACC ATCACATGTGGAGCAAGTGAGAATATTTAC GGTGCTTTAAATTGGTATCAGCGGAAACAG GGAAAATCTCCTCAGCTCCTGATCTATGGT GCAACCAACTTGGCAGATGGCATGTCATCG

	AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGTAGACA GTATTCTCTCAAGATCAGTAGCCTGCATCC TGACGATGTTGCAACGTATTACTGTCAAAAT GTGTTAAGTACTCCGTACACGTTCGGAGGG GGGACCAAGCTGGAAATAAAA

Tabla 4. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de 40-1C10B9

Descripción	Secuencia
Secuencia señal de la cadena pesada (aminoácidos; SEQ ID N.º 35)	MEWSWVFLFLLSVIAGVQS
Secuencia señal de la cadena liviana (aminoácidos; SEQ ID N.º 36)	MGVPTQLLLLWLTVVVVRC
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 41)	QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFT DYEMHWVKQTPVHGLEWIGAIDPETTSTAYN QKFKGKATLTADKSSSTAYMELRSLTSEDSA VYYCTKCYYGSADYAMDYWGQGTSVTVSS
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 42)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCGASENIYGA LNWYQRKQGKSPQLLIYGATNLADGMSSRF SGSGSGRQYSLKISSLHPDDVATYYCQNVLS TPWTFGGGTKLEIK
Secuencia señal de la cadena pesada (nucleótidos; SEQ ID N.º 47)	ATGGAATGGAGCTGGGTCTTTCTCTTCCTC CTGTCAGTAATTGCAGGTGTCCAATCC
Secuencia señal de la cadena liviana (nucleótidos; SEQ ID N.º 48)	ATGGGTGTACCCACTCAGCTCCTGTTGCTG TGGCTTACAGTCGTAGTTGTCAGATGT
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 53)	CAGGTTCAACTGCAGCAGTCTGGGGCTGA GCTGGTGAGGCCTGGGGCTTCAGTGACGC TGTCCTGCAAGGCTTCGGGCTACACATTTA CTGACTATGAAATGCACTGGGTGAAGCAGA CACCTGTGCATGGCCTGGAATGGATTGGA GCTATTGATCCTGAAACTACTAGTACTGCC TACAATCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACA CTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCC TACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTGAG GACTCTGCCGTCTATTACTGTACCAAATGTT ACTACGGTAGCGCGGACTATGCTATGGACT ACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCT CCTCA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 54)	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCTTCA CTGTCTGCATCTGTGGGAGAAACTGTCACC ATCACATGTGGAGCAAGTGAGAATATTTAC GGTGCTTTAAATTGGTATCAGCGGAAACAG GGAAAATCTCCTCAGCTCCTGATCTATGGT GCAACCAACTTGGCAGATGGCATGTCATCG AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGTAGACA GTATTCTCTCAAGATCAGTAGCCTGCATCC TGACGATGTTGCAACGTATTACTGTCAAAAT GTGTTAAGTACTCCGTGGACGTTCGGTGGA GGCACCAAGCTGGAAATCAAA

[0259] Posteriormente, se emplearon los anticuerpos de ratón 36F7C10, 42G5B10 y 40-1C10B9 para producir las cadenas pesadas y livianas de los anticuerpos humanizados. El método de humanización comprendió injertar las regiones de determinación de la complementariedad (CDR) de ratón, que se identificaron

sobre la base de las definiciones de Kabat y/o de Chotia, de acuerdo con la numeración de Kabat, en las secuencias de las cadenas pesadas y las cadenas livianas de la línea germinal humana cuyos marcos de trabajo presentaban las mejores coincidencias con las secuencias originales de ratón de las que se habían obtenido las CDR (figura 6; en negrita se representan los residuos que difieren entre el anticuerpo de ratón y la secuencia de la línea germinal humana; en negrita y subrayadas se representan las CDR de ratón injertadas; en cursiva y subrayados se representan los residuos del marco de trabajo que fueron sustituidos por los residuos correspondientes de los anticuerpos de ratón; y subrayados, en cursiva y en negrita se representan los residuos de las CDR que fueron sustituidos por los residuos correspondientes de la línea germinal humana). Las coincidencias en el marco de trabajo se identificaron usando la base de datos IgBlast, de acuerdo con los métodos que se describen en Altschul *et al.*, Nucl. Acids Res, 25: 3389-3402 (1997). Con el objeto de obtener versiones alternativas de las cadenas humanizadas, se emplearon dos métodos. Por un lado, se usaron técnicas de modelado tridimensional para predecir los residuos en el marco de trabajo murino que eran críticos para la interacción con la CDR. Por otro lado, se realizaron alineamientos con las secuencias para identificar los residuos murinos que se encontraban en posiciones inmediatamente adyacentes a las secuencias de las CDR canónicas.

[0260] Las secuencias humanizadas se introdujeron en vectores de expresión y se transfectaron en líneas de células de mamíferos (por ejemplo, en células HEK293E (Invitrogen)) para producir anticuerpos. Los anticuerpos que se obtuvieron con este proceso se caracterizaron con ensayos funcionales y fisicoquímicos.

Ejemplo 4. Ensayos de quimiotaxis *in vitro* para demostrar la actividad de

neutralización de los anticuerpos anti-CCL20 humano humanizados

[0261] Se identificaron anticuerpos humanizados que podían neutralizar activamente el ligando CCL20 humano a través de ensayos de quimiotaxis *in vitro* donde se usaron células B300.19 transducidas con CCR6. Una vez determinados los valores de la IC_{50}, de la IC_{90} y de la IC_{95} (Figuras 7A-C), se consideró que los anticuerpos que presentaban valores reducidos en la tabla de la IC_{95} tenían una actividad de neutralización significativa (figura 7C). Se evaluaron 41 combinaciones de las 14 cadenas pesadas humanizadas y las 26 cadenas livianas humanizadas que se produjeron. Ocho de estas combinaciones presentaron una actividad de neutralización de la quimiotaxis significativa. Estos ocho anticuerpos humanizados se detallan a continuación.

- 36LK3/36HKK3
- 36LK3/42HKK1
- 36LK3/42HKK2
- 36LK3/42HKK3
- 36LK3/36HC2
- 36LK3/36HC3
- 36LC3/36HKK3
- 36LC3/36HC2

[0262] Las secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de las cadenas pesadas humanizadas HC2, HC3, 36HKK3, 42HKK1, 42HKK2 y 42HKK3 y de las cadenas livianas humanizadas LC3 y LK3 se detallan en las tablas 5-12. Las secuencias de aminoácidos codificadas por los genes de la línea germinal humana que se

emplearon en estas cadenas pesadas y livianas se detallan en la tabla 13.

Tabla 5. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena pesada humanizada ("HC2") del anticuerpo anti-CCL20 humano 36HC2

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada con la secuencia señal (SEQ ID N.º 1)	MGWSCIILFLVATATGVHS**QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAP GQGLEWMGVIDPSDSYTTYAQKFQGRVTMT VDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGNY GVDYAMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada sin la secuencia señal (SEQ ID N.º 108)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYWMHWVRQAPGQGLEWMGVIDPSDSYTT YAQKFQGRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARGNYGVDYAMDYWGQGTLVTV SS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 9)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYWMHWVRQAPGQGLEWMGVIDPSDSYTT YAQKFQGRVTMTVDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARGNYGVDYAMDYWGQGTLVTV SS**
Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada con la secuencia señal (SEQ	ATGGGCTGGTCCTGCATCATTCTGTTCCTG GTGGCCACTGCTACCGGAGTGCACAGC**CA GGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAG**

ID N.º 17)	**GTGAAGAAACCCGGTGCAAGTGTGAAGGT** **GTCATGTAAAGCATCCGGCTATACATTCAC** **TAACTACTGGATGCATTGGGTGAGGCAGG** **CTCCAGGACAGGGACTGGAATGGATGGG** **CGTGATCGACCCTTCAGATTCCTACACCA** **CATATGCCCAGAAGTTTCAGGGCAGGGTG** **ACCATGACAGTGGACACTAGCACCTCTAC** **AGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGAA** **GTGAAGATACAGCAGTGTACTATTGCGCC** **CGCGGCAATTACGGAGTGGACTATGCCAT** **GGATTACTGGGGGCAGGGTACTCTGGTGA** **CCGTGTCTAGT**GCTTCTACCAAGGGCCCAT CGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGA GCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACA AAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCAC CTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTC CTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTA CCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA CACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAG CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGGAAAT GA
Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada con la secuencia señal (SEQ	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGA** **GGTGAAGAAACCCGGTGCAAGTGTGAAG** **GTGTCATGTAAAGCATCCGGCTATACATTC**

ID N.º 109)	**ACTAACTACTGGATGCATTGGGTGAGGCA** **GGCTCCAGGACAGGGACTGGAATGGATG** **GGCGTGATCGACCCTTCAGATTCCTACAC** **CACATATGCCCAGAAGTTTCAGGGCAGGG** **TGACCATGACAGTGGACACTAGCACCTCT** **ACAGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAG** **AAGTGAAGATACAGCAGTGTACTATTGCG** **CCCGCGGCAATTACGGAGTGGACTATGCC** **ATGGATTACTGGGGGCAGGGTACTCTGGT** **GACCGTGTCTAGT**GCTTCTACCAAGGGCC CATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCA AGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTG GGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCG CCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG GCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG CAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAA CGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGA CAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCT TCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCC TCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGT ACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTG CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTA CAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCC AGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGC CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCT GGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG GAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGT GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTA TAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT GGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGG GAAATGA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 25)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGA** **GGTGAAGAAACCCGGTGCAAGTGTGAAG** **GTGTCATGTAAAGCATCCGGCTATACATTC** **ACTAACTACTGGATGCATTGGGTGAGGCA** **GGCTCCAGGACAGGGACTGGAATGGATG**

	GGCGTGATCGACCCTTCAGATTCCTACAC CACATATGCCCAGAAGTTTCAGGGCAGGG TGACCATGACAGTGGACACTAGCACCTCT ACAGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAG AAGTGAAGATACAGCAGTGTACTATTGCG CCCGCGGCAATTACGGAGTGGACTATGCC ATGGATTACTGGGGGCAGGGTACTCTGGT GACCGTGTCTAGT

Tabla 6. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena pesada humanizada ("HC3") del anticuerpo anti-CCL20 humano 36HC3

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 2)	MGWSCIILFLVATATGVHS**QVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVKQAP GQGLEWIGVIDPSDSYTTYNQKFKGKATMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTRGNY GVDYAMDYWGQGTSVTVSS**ASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 10)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYWMHWVKQAPGQGLEWIGVIDPSDSYTTY NQKFKGKATMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTRGNYGVDYAMDYWGQGTSVTVS S**
Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 18)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATTCTGTTCCTG GTGGCAACTGCCACCGGAGTGCACAGC**CA GGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAG GTGAAGAAACCCGGTGCAAGTGTGAAAGT GTCATGCAAGGCATCCGGCTATACATTCA CTAACTACTGGATGCATTGGGTGAAGCAG GCACCAGGACAGGGACTGGAATGGATCG GCGTGATCGACCCTTCAGATTCCTACACC ACATATAATCAGAAGTTTAAAGGCAAGGC TACCATGACAAGGGACACTAGCACCTCTA CAGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGG TCCGAAGATACAGCCGTGTACTATTGCAC**

	TCGGGGCAACTACGGAGTGGACTATGCTA **TGGATTACTGGGGGCAGGGTACTAGTGTG** **ACCGTGTCTAGT**GCATCTACCAAGGGCCC ATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAA GAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGG GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAAC CGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCC CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGC TGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCT CAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCA GCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGA CAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCT TCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCC TCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGT ACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTG CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTA CAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCC AGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGC CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCT GGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG GAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGT GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTA TAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT GGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGG GAAATGA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 26)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGA** **GGTGAAGAAACCCGGTGCAAGTGTGAAA** **GTGTCATGCAAGGCATCCGGCTATACATT** **CACTAACTACTGGATGCATTGGGTGAAGC** **AGGCACCAGGACAGGGACTGGAATGGAT** **CGGCGTGATCGACCCTTCAGATTCCTACA** **CCACATATAATCAGAAGTTTAAAGGCAAG** **GCTACCATGACAAGGGACACTAGCACCTC** **TACAGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGA** **GGTCCGAAGATACAGCCGTGTACTATTGC** **ACTCGGGGCAACTACGGAGTGGACTATGC** **TATGGATTACTGGGGGCAGGGTACTAGTG**

	TGACCGTGTCTAGT

Tabla 7. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena pesada humanizada del anticuerpo anti-CCL20 humano 36HKK3

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 3)	MDWTWRILFLVAAATGAHS**QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQA PGQGLEWMGVIDPSDSYTTYNQKFKGKATL TVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRGNY GVDYAMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 11)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYWMHWVRQAPGQGLEWMGVIDPSDSYTT YNQKFKGKATLTVDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRGNYGVDYAMDYWGQGTLVTVS S**
Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 19)	ATGGACTGGACATGGAGAATCCTGTTCCTG GTGGCCGCTGCAACCGGAGCACACAGC**CA GGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAG GTGAAGAAACCCGGTGCTAGTGTGAAAGT GTCATGCAAGGCCTCCGGGTATACTTTCA CCAACTACTGGATGCATTGGGTGAGGCAG GCTCCAGGACAGGGACTGGAATGGATGG GCGTGATTGACCCTTCAGATTCCTACACCA CATATAATCAGAAGTTTAAAGGAAAGGCA ACACTGACTGTGGACACCAGCACATCTAC TGCCTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGT CCGAAGATACTGCCGTGTACTATTGTACC CGGGGCAACTACGGAGTGGACTATGCAAT GGATTACTGGGGGCAGGGTACCCTGGTGA CAGTGTCTAGT**GCTAGCACCAAGGGCCCA TCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC

	TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACA AAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCAC CTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTC CTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTA CCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA CACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAG CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAT GA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 27)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGA GGTGAAGAAACCCGGTGCTAGTGTGAAAG TGTCATGCAAGGCCTCCGGGTATACTTTCA CCAACTACTGGATGCATTGGGTGAGGCAG GCTCCAGGACAGGGACTGGAATGGATGG GCGTGATTGACCCTTCAGATTCCTACACCA CATATAATCAGAAGTTTAAAGGAAAGGCA ACACTGACTGTGGACACCAGCACATCTAC TGCCTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGT CCGAAGATACTGCCGTGTACTATTGTACC CGGGGCAACTACGGAGTGGACTATGCAAT GGATTACTGGGGGCAGGGTACCCTGGTGA CAGTGTCTAGT**

Tabla 8. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena pesada humanizada del anticuerpo anti-CCL20 humano 42HKK1

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se

	representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 4)	MDWTWRILFLVAAATGAHS**QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQA PGQGLEWMGLIDPSDKYTNYNQKFKGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGNY GVDYGMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 12)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYWMHWVRQAPGQGLEWMGLIDPSDKYTN YNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARGNYGVDYGMDYWGQGTLVTV SS**
Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 20)	ATGGACTGGACCTGGCGAATCCTGTTCCTG GTGGCCGCTGCAACAGGAGCACACTCA**CA GGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGGGCAGAG GTGAAGAAACCCGGTGCCAGCGTGAAGG TGTCTTGCAAAGCTAGTGGCTATACCTTCA CAAGCTACTGGATGCATTGGGTGCGGCAG GCACCAGGACAGGGACTGGAATGGATGG GCCTGATTGACCCTTCTGATAAGTACACTA ACTACAACCAGAAGTTTAAAGGAAGGGTG ACTATGACCCGGGACACATCAACTTCCAC CGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGAT CCGAAGATACCGCCGTGTACTATTGTGCT CGCGGCAACTACGGAGTGGACTATGGCAT GGATTACTGGGGGCAGGGTACACTGGTGA CCGTGTCCAGT**GCTAGCACCAAGGGCCCA TCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACA AAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCAC

	CTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTC CTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTA CCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA CACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAG CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAT GA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 28)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGGGCAG AGGTGAAGAAACCCGGTGCCAGCGTGAA GGTGTCTTGCAAAGCTAGTGGCTATACCTT CACAAGCTACTGGATGCATTGGGTGCGGC AGGCACCAGGACAGGGACTGGAATGGAT GGGCCTGATTGACCCTTCTGATAAGTACA CTAACTACAACCAGAAGTTTAAAGGAAGG GTGACTATGACCCGGGACACATCAACTTC CACCGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGA GATCCGAAGATACCGCCGTGTACTATTGT GCTCGCGGCAACTACGGAGTGGACTATGG CATGGATTACTGGGGGCAGGGTACACTGG TGACCGTGTCCAGT**

Tabla 9. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena pesada humanizada del anticuerpo anti-CCL20 humano 42HKK2

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 5)	MDWTWRILFLVAAATGAHS**QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQA PGQGLEWMGLIDPSDKYTNYNQKFKGRVTL TVDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTRGNY GVDYGMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPL

	APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 13)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYWMHWVRQAPGQGLEWMGLIDPSDKYTN YNQKFKGRVTLTVDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTRGNYGVDYGMDYWGQGTLVTVS S**
Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 21)	ATGGACTGGACTTGGAGGATCCTGTTCCTG GTGGCCGCTGCAACCGGAGCTCACTCA**CA GGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCAGAG GTGAAGAAACCCGGTGCCTCCGTGAAGGT GTCTTGCAAAGCAAGTGGCTATACCTTCA CAAGCTACTGGATGCATTGGGTGAGACAG GCACCAGGACAGGGACTGGAATGGATGG GCCTGATTGACCCTTCTGATAAGTACACCA ACTACAACCAGAAGTTTAAAGGACGCGTG ACTCTGACCGTGGACACATCAACTTCCAC CGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGT CCGAAGATACCGCAGTGTACTATTGTACA CGGGGCAACTACGGAGTGGACTATGGCAT GGATTACTGGGGGCAGGGTACACTGGTGA CCGTGTCCAGT**GCTAGCACCAAGGGCCCA TCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACA AAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCAC CTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTC CTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTA

	CCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA CACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAG CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAT GA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 29)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCAG AGGTGAAGAAACCCGGTGCCTCCGTGAAG GTGTCTTGCAAAGCAAGTGGCTATACCTTC ACAAGCTACTGGATGCATTGGGTGAGACA GGCACCAGGACAGGGACTGGAATGGATG GGCCTGATTGACCCTTCTGATAAGTACAC CAACTACAACCAGAAGTTTAAAGGACGCG TGACTCTGACCGTGGACACATCAACTTCC ACCGTGTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAG GTCCGAAGATACCGCAGTGTACTATTGTA CACGGGGCAACTACGGAGTGGACTATGG CATGGATTACTGGGGGCAGGGTACACTGG TGACCGTGTCCAGT**

Tabla 10. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena pesada humanizada del anticuerpo anti-CCL20 humano 42HKK3

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 6)	MDWTWRILFLVAAATGAHS**QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQA PGQGLEWMGLIDPSDKYTNYNQKFKGKATL TVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRGNY GVDYGMDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE

	PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 14)	**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYWMHWVRQAPGQGLEWMGLIDPSDKYTN YNQKFKGKATLTVDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRGNYGVDYGMDYWGQGTLVTVS S**
Secuencia de nucleótidos de la cadena pesada (SEQ ID N.º 22)	ATGGACTGGACTTGGAGAATCCTGTTCCTG GTGGCCGCTGCAACCGGAGCTCACTCA**CA GGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCAGAG GTGAAGAAACCCGGTGCCTCCGTGAAAGT GTCTTGCAAGGCTAGTGGCTATACCTTCAC AAGCTACTGGATGCATTGGGTGAGGCAGG CACCAGGACAGGGACTGGAATGGATGGG CCTGATTGACCCTTCTGATAAGTACACCAA CTACAACCAGAAGTTTAAAGGAAAGGCAA CTCTGACCGTGGACACATCAACTTCCACC GCCTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGTC CGAAGATACCGCCGTGTACTATTGTACAC GGGGCAACTACGGAGTGGACTATGGCATG GATTACTGGGGGCAGGGTACACTGGTGAC CGTGTCCAGT**GCTAGCACCAAGGGCCCAT CGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGA GCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACA AAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCAC CTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTC CTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTA CCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA CACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG

	GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAG CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAT GA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena pesada (SEQ ID N.º 30)	**CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCAG AGGTGAAGAAACCCGGTGCCTCCGTGAAA GTGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTATACCTTC ACAAGCTACTGGATGCATTGGGTGAGGCA GGCACCAGGACAGGGACTGGAATGGATG GGCCTGATTGACCCTTCTGATAAGTACAC CAACTACAACCAGAAGTTTAAAGGAAAGG CAACTCTGACCGTGGACACATCAACTTCC ACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAG GTCCGAAGATACCGCCGTGTACTATTGTA CACGGGGCAACTACGGAGTGGACTATGG CATGGATTACTGGGGGCAGGGTACACTGG TGACCGTGTCCAGT**

Tabla 11. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena liviana humanizada del anticuerpo anti-CCL20 humano LC3

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena liviana con la secuencia señal (SEQ ID N.º 7)	MGWSCIILFLVATATGVHS**DIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASENIYGALNWYQQKPGKA PKLLIYGATNLADGVPSRFSGSGSGRQYSLT ISSLQPEDFATYYCQNVLITPYTFGGGTKLEI K**RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
Secuencia de aminoácidos de la cadena liviana sin la secuencia señal (SEQ ID N.º 110)	**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYGA LNWYQQKPGKAPKLLIYGATNLADGVPSRF SGSGSGRQYSLTISSLQPEDFATYYCQNVLI TPYTFGGGTKLEIK**RTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID	**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYGA LNWYQQKPGKAPKLLIYGATNLADGVPSRF SGSGSGRQYSLTISSLQPEDFATYYCQNVLI TPYTFGGGTKLEIK**

N.º 15)	
Secuencia de nucleótidos de la cadena liviana con la secuencia señal (SEQ ID N.º 23)	ATGGGCTGGTCCTGCATCATTCTGTTCCTG GTGGCAACCGCCACAGGAGTGCACAGC**GA** **CATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCAGCC** **TGAGTGCCTCAGTGGGCGATAGGGTGACT** **ATCACCTGTCGGGCCAGCGAGAACATCTA** **CGGCGCTCTGAATTGGTATCAGCAGAAGC** **CAGGAAAAGCTCCCAAGCTGCTGATCTAC** **GGGGCTACAAACCTGGCAGACGGTGTGC** **CCAGTCGATTCTCCGGTAGCGGCTCTGGA** **CGACAGTATTCACTGACTATCTCTAGTCTG** **CAGCCTGAAGATTTCGCCACTTACTATTGC** **CAGAATGTGCTGATTACTCCATATACCTTT** **GGCGGAGGGACAAAACTGGAGATCAAG**A GAACTGTGGCCGCTCCCAGTGTGTTCATTT TTCCCCCTTCAGACGAACAGCTGAAATCAG GGACCGCTTCCGTGGTGTGTCTGCTGAAC AATTTCTACCCTCGCGAGGCAAAAGTGCAG TGGAAGGTGGATAACGCCCTGCAGAGTGG CAATTCACAGGAGTCCGTGACCGAACAGG ACAGCAAAGATTCTACATATAGTCTGTCATC CACCCTGACACTGAGCAAGGCTGATTACGA GAAGCACAAAGTGTATGCATGCGAAGTGAC TCATCAGGGGCTGAGCTCTCCCGTGACCA AGTCTTTTAACCGGGGTGAATGTTGA
Secuencia de nucleótidos de la cadena liviana sin la secuencia señal (SEQ ID N.º 111)	**GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCAG** **CCTGAGTGCCTCAGTGGGCGATAGGGTGA** **CTATCACCTGTCGGGCCAGCGAGAACATC** **TACGGCGCTCTGAATTGGTATCAGCAGAA** **GCCAGGAAAAGCTCCCAAGCTGCTGATCT** **ACGGGGCTACAAACCTGGCAGACGGTGT** **GCCCAGTCGATTCTCCGGTAGCGGCTCTG** **GACGACAGTATTCACTGACTATCTCTAGTC** **TGCAGCCTGAAGATTTCGCCACTTACTATT** **GCCAGAATGTGCTGATTACTCCATATACCT** **TTGGCGGAGGGACAAAACTGGAGATCAA** **G**AGAACTGTGGCCGCTCCCAGTGTGTTCAT TTTTCCCCCTTCAGACGAACAGCTGAAATC AGGGACCGCTTCCGTGGTGTGTCTGCTGA ACAATTTCTACCCTCGCGAGGCAAAAGTGC AGTGGAAGGTGGATAACGCCCTGCAGAGT GGCAATTCACAGGAGTCCGTGACCGAACA GGACAGCAAAGATTCTACATATAGTCTGTC ATCCACCCTGACACTGAGCAAGGCTGATTA CGAGAAGCACAAAGTGTATGCATGCGAAGT GACTCATCAGGGGCTGAGCTCTCCCGTGA CCAAGTCTTTTAACCGGGGTGAATGTTGA

Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 31)	**GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCAG CCTGAGTGCCTCAGTGGGCGATAGGGTGA CTATCACCTGTCGGGCCAGCGAGAACATC TACGGCGCTCTGAATTGGTATCAGCAGAA GCCAGGAAAAGCTCCCAAGCTGCTGATCT ACGGGGCTACAAACCTGGCAGACGGTGT GCCCAGTCGATTCTCCGGTAGCGGCTCTG GACGACAGTATTCACTGACTATCTCTAGTC TGCAGCCTGAAGATTTCGCCACTTACTATT GCCAGAATGTGCTGATTACTCCATATACCT TTGGCGGAGGGACAAAACTGGAGATCAA G**

Tabla 12. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de la cadena liviana humanizada del anticuerpo anti-CCL20 humano LK3

Descripción	Secuencia (la secuencia señal se representa subrayada, el dominio variable se representa en negrita)
Secuencia de aminoácidos de la cadena liviana con la secuencia señal (SEQ ID N.º 8)	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC**DIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCGASENIYGALNWYQRK PGKAPKLLIYGATNLADGVPSRFSGSGSGR DYTLTISSLQPEDFATYYCQNVLITPYTFGQG TKLEIK**RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Secuencia de aminoácidos de la cadena liviana sin la secuencia señal (SEQ ID N.º 112)	**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYG ALNWYQRKPGKAPKLLIYGATNLADGVPSR FSGSGSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCQNVLI TPYTFGQGTKLEIK**RTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 16)	**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYG ALNWYQRKPGKAPKLLIYGATNLADGVPSR FSGSGSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCQNVLI TPYTFGQGTKLEIK**
Secuencia de nucleótidos de la cadena liviana con la secuencia señal (SEQ ID N.º 24)	ATGGACATGAGGGTGCCTGCTCAGCTGCT GGGACTGCTGCTGCTGTGGCTGAGGGGAG CACGATGC**GACATCCAGATGACTCAGAGC CCATCCAGCCTGTCAGCCTCCGTGGGCGA CAGGGTGACCATCACATGTGGAGCATCCG AGAACATCTACGGGGCCCTGAATTGGTAT CAGAGGAAGCCCGGCAAAGCTCCTAAGCT GCTGATCTACGGTGCCACAAACCTGGCTG ATGGCGTGCCCTCCAGATTCAGCGGCTCT GGAAGTGGGCGCGACTATACTCTGACCAT**

	TTCTAGTCTGCAGCCAGAGGATTTCGCCA **CCTACTATTGCCAGAATGTGCTGATCACAC** **CCTACACTTTTGGTCAGGGCACAAAACTG** **GAAATTAAG**CGTACGGTGGCTGCACCATC TGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCA GTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTG CCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGC CAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCT CCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCA CAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTAC AGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAA AGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGC CTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCT CGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA GAGTGTTGA
Secuencia de nucleótidos de la cadena liviana sin la secuencia señal (SEQ ID N.º 113)	**GACATCCAGATGACTCAGAGCCCATCCAG** **CCTGTCAGCCTCCGTGGGCGACAGGGTGA** **CCATCACATGTGGAGCATCCGAGAACATC** **TACGGGGCCCTGAATTGGTATCAGAGGAA** **GCCCGGCAAAGCTCCTAAGCTGCTGATCT** **ACGGTGCCACAAACCTGGCTGATGGCGTG** **CCCTCCAGATTCAGCGGCTCTGGAAGTGG** **GCGCGACTATACTCTGACCATTTCTAGTCT** **GCAGCCAGAGGATTTCGCCACCTACTATT** **GCCAGAATGTGCTGATCACACCCTACACT** **TTTGGTCAGGGCACAAAACTGGAAATTAA** **G**CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCAT CTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATC TGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACA GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGG GTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAG CAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACT ACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAG TCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC ACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA
Secuencia de nucleótidos del dominio variable de la cadena liviana (SEQ ID N.º 32)	**GACATCCAGATGACTCAGAGCCCATCCAG** **CCTGTCAGCCTCCGTGGGCGACAGGGTGA** **CCATCACATGTGGAGCATCCGAGAACATC** **TACGGGGCCCTGAATTGGTATCAGAGGAA** **GCCCGGCAAAGCTCCTAAGCTGCTGATCT** **ACGGTGCCACAAACCTGGCTGATGGCGTG** **CCCTCCAGATTCAGCGGCTCTGGAAGTGG** **GCGCGACTATACTCTGACCATTTCTAGTCT** **GCAGCCAGAGGATTTCGCCACCTACTATT** **GCCAGAATGTGCTGATCACACCCTACACT** **TTTGGTCAGGGCACAAAACTGGAAATTAA** **G**

Tabla 13. Secuencias de aminoácidos codificadas por los genes de la línea germinal humana

Descripción	Secuencia
IGHV1-46*03 (SEQ ID N.º 57)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCAR
JH4 (SEQ ID N.º 117)	WGQGTLVTVSS
IGKV1D-39*01 (SEQ ID N.º 59)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSY LNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYST PP

[0263] Sobre la base de los resultados de la evaluación, se seleccionaron los anticuerpos 36LK3/36HC2 ("HC2/LK3") y 36LC3/36HC2 ("HC2/LC3") para realizar estudios adicionales. Con estos dos anticuerpos, se llevaron a cabo ensayos de quimiotaxis *in vitro* en paralelo con el clon progenitor de ratón 36F7C10 y con su forma quimérica (que comprende una porción Fc humana). En este ensayo, se emplearon placas de cultivo con cavidades transparentes, con células B300.19 CCR6+ sembradas en la capa superior y el ligando CCL20 humano recombinante en la capa inferior. Se preincubó CCL20 humano recombinante (en una concentración final de 10 nM, R&D Systems) con los anticuerpos humanizados anti-CCL20 a temperatura ambiente. Después de 30 minutos, se aplicaron células B murinas transducidas con CCR6 humano (B300.19, que fueron provistas por el Dr. H. Kawasaki, de la Universidad de Tokio) en la capa superior y se dejó proceder la quimiotaxis a 37ºC durante 4 horas. Al final de la incubación, se usó un análisis de FACS para determinar la cantidad de células que migraron. Posteriormente, se calcularon las constantes de inhibición al 50 %, al 90 % y al 95 % (IC_{50}, IC_{90} e IC_{95}, respectivamente) para HC2/LK3 y para HC2/LC3 (tabla 14). Ninguno de los anticuerpos humanizados perdió su actividad de neutralización en comparación con el anticuerpo monoclonal progenitor de ratón: los valores de la IC_{50} fueron de aproximadamente 1 nM.

Tabla 14. Actividad de neutralización de HC2/LK3 y HC2/LC3 contra CCL20 humano en un ensayo de quimiotaxis (nM)

	Anticuerpo monoclonal de ratón	Anticuerpo monoclonal quimérico
IC_{50}	1,697 ± 0,464	1,438 ± 0,216
IC_{90}	3,944 ± 0,593	3,510 ± 0,601
IC_{95}	7,680 ± 2,966	5,480 ± 1,179

Anticuerpo monoclonal humanizado HC2/LK3				
Ensayo	1	2	3	Promedio
IC_{50}	0,65	1,09	1,30	1,014 ± 0,330
IC_{90}	3,55	3,35	6,79	4,564 ± 1,928
IC_{95}	7,59	5,41	13,91	8,972 ± 4,417
Anticuerpo monoclonal humanizado HC2/LC3				
Ensayo	1	2	3	Promedio
IC_{50}	0,90	1,26	1,20	1,117 ± 0,193
IC_{90}	4,64	5,82	5,30	5,251 ± 0,591
IC_{95}	11,77	>66,77	10,33	--

En las figuras 8A-C se ilustran las respuestas a las dosis que se obtuvieron en una prueba representativa con el anticuerpo HC2/LK3. Se representan tres experimentos independientes.

[0264] La actividad de neutralización de HC2/LK3 y HC2/LC3 también se confirmó usando un ensayo de la migración transendotelial (TEM), donde se emplearon

células mononucleares de sangre periférica humana aisladas recientemente en lugar de células artificiales transducidas con CCR6. Debido a que es bien sabido que entre las células T de memoria CD3+CD4+CD45RO+ y las células B CD19+ hay una gran cantidad de células positivas para CCR6, se determinó la cantidad de células de estas poblaciones que migraron en presencia o ausencia de los anticuerpos HC2/LK3 y HC2/LC3 o del anticuerpo de ratón progenitor 36F7C10. Los dos anticuerpos humanizados (figuras 9B y C) ejercieron una inhibición de la migración dependiente de la dosis que fue comparable a la que provocó el anticuerpo 36F7C10 (figura 9A), lo que constituye una evidencia adicional de su actividad de neutralización.

Ejemplo 5. Unión de los anticuerpos monoclonales anti-CCL20 humano humanizados a CCL20 humano

[0265] Para medir la afinidad de unión de los anticuerpos humanizados HC2/LC3 y HC2/LK3 por medio de una resonancia de plasmón superficial (Biacore™), se expresaron y se purificaron los anticuerpos a partir de un medio acondicionado con células HEK293F que habían sido transfectadas de manera estable, para luego capturarlos en un chip CM5 recubierto con anticuerpos monoclonales contra el fragmento Fc humano, usando HBS-EP como amortiguador para el procedimiento. Después, se inyectaron diversas diluciones (100, 20, 4, 0,8, 0,16 y 0 nM) de la proteína CCL20 humana (R&D Systems) en la superficie del chip cubierto y se observó la disociación de CCL20 unido durante un período de hasta 20 minutos (figuras 10A y B). Se ajustaron los datos de la unión globalmente con

un modelo de Langmuir 1:1. Los resultados se proveen en la tabla 15 y representan el promedio de dos experimentos independientes. Se ha informado que la afinidad entre CCL20 y su receptor, CCR6, es de 500 pM en las células primarias humanas (Liao *et al.*, *J. Immunol.* 168(10):4871-4880 (2002)). Con los datos obtenidos, se demuestra que las afinidades de los anticuerpos HC2/LC3 y HC2/LK3 por CCL20 son aproximadamente 10 veces mayores que la afinidad de CCR6 por CCL20.

Tabla 15. Resultados del análisis de SPR con los anticuerpos humanizados anti-CCL20 de la invención

Cadena pesada/cadena liviana	k_a (x 10^5 M^{-1}segundo^{-1})	k_d (x 10^{-5} segundo^{-1})	K_D (pM)	Desviación estándar
HC2/LC3	145	61	44	15
HC2/LK3	166	117	70	7

Ejemplo 6. Reactividad transversal de los anticuerpos monoclonales anti-CCL20 humano humanizados con parálogos de quimioquinas

[0266] Se examinó la especificidad por CCL20 humano de HC2/LK3 y de HC2/LC3 analizando su reactividad transversal con un panel de quimioquinas (tabla 16), a través de un ensayo inmunosorbente ligado a enzimas (ELISA).

Tabla 16. Quimioquinas humanas recombinantes usadas en el ensayo de ELISA

Quimioquina	Fabricante	Cat. n.°

CCL20	MIP-3a/LARC	R&D	360-MP-025/CF
XCL1	Ltn	R&D	695-LT-025/CF
CCL28		R&D	717-VC-025/CF
CCL27	CTACK	R&D	376-CT-025/CF
CCL25	TECK	GT	2234X
CCL24	Eotaxina-2/MPIF-2	GT	2343X
CCL22	MDC	R&D	336-MD-025/CF
CCL21	6Cquina/SLC	R&D	366-6C-025/CF
CCL19	MIP-3b	R&D	361-MI-025/CF
CCL17	TARC	GT	2364
CCL16	HCC-4	R&D	802-HC-025/CF
CCL13	MCP-4	GT	2327X
CCL11	Eotaxina	R&D	320-EO-020/CF
CCL7	MARC	R&D	282-P3-010/CF
CCL5	Rantes	CHEMICON	GF020
CCL4	MIP-1β	R&D	271-BME-010/CF
CCL3	MIP-1a	GT	2270X
CCL2	MCP-1/MCAF/JE	PEPRO TECH	300-04
CCL1	TCA3/I-309	GT	2272
CXCL16	CXCL16	GT	2976X
CXCL13	BCA-1/BLC	R&D	801-CX-025/CF

CXCL12	SDF-1/PBSF	R&D	350-NS-010/CF
CXCL10	IP-10	PEPRO TECH	300-12
CXCL9	MIG	GT	2392X
CXCL8	IL-8	PEPRO TECH	200-08M
CXCL4	PF4	R&D	795-P4-025/CF
CXCL2	GROβ	R&D	276-GB-010/CF
CXCL1	GROα	R&D	275-GR-010/CF
CX3CL1 (dominio de quimioquina)	FKN	R&D	362-CX-025/CF
CX3CL1 (dominio extracelular)	FKN	R&D	365-FR-025/CF

Se recubrieron las cavidades de una placa de 96 cavidades con 1 µg/ml de las quimioquinas humanas recombinantes en PBS (-). Después de incubar durante la noche a 4ºC, se bloquearon las cavidades con Block-Ace 1x (Dainippon Sumitomo Pharma, UK-B80) durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de lavar dos veces con Tween 20/PBS (-) al 0,02 %, en cada cavidad se agregaron 50 µl de una solución con 10 µg/ml de un anticuerpo 36F7C10 purificado, de un anticuerpo 36F710 quimérico, de un anticuerpo HC2/LK3 o de un anticuerpo HC2/LC3 en Tween 20/PBS (-) al 0,02 %. Las cavidades se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente y se lavaron tres veces como se describe en el ejemplo 3. Luego se agregó un anticuerpo anti-IgG de ratón conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP; Jackson, n.º 715-035-150, para 36F7C10) o un anticuerpo contra el fragmento Fcγ de la IgG humana conjugado con HRP

(Jackson, n.º 109-035-098, para los anticuerpos quiméricos y humanizados), en una dilución al 5000º en Tween 20/PBS (-) al 0,02 %, y se incubaron las cavidades durante 1 hora a temperatura ambiente. Se realizaron cinco lavados, se agregó una solución de TMBZ (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) al 1 % en N,N-dimetilformamida a las cavidades y se incubó durante 15-30 minutos. Se detuvo la reacción agregando un volumen idéntico de una solución de terminación con H_2SO_4 2 M y se leyó la densidad óptica a 450 nm con un dispositivo ARVO (PerkinElmer). Tal como se ilustra en la figura 11B, los anticuerpos HC2/LK3 y HC2/LC3 se unieron específicamente a CCL20 humano, en una medida muy superior a las otras quimioquinas en el panel.

[0267] En estos ensayos, aunque HC2/LK3 reaccionó contra CCL20 humano unido a las placas, pareció presentar una potencia menor que los anticuerpos de ratón 36F7C10 o x36F7C10-hFc (figura 11A). Sin embargo, el anticuerpo HC2/LK3 presentó una unión clara y fuerte con CCL20 anclado a través de una marca de His en los ensayos de ELISA (figura 11C), que posibilitó la exposición de la totalidad de las porciones de CCL20 al solvente. Esto puede reflejar que hay uno o más epitopes de CCL20 para HC2/LK3 que quedan cubiertos u ocluidos durante el procedimiento que se emplea para unir CCL20 a la superficie de la placa en el primer formato de ensayo. Para evitar este posible artefacto, se empleó un análisis Biacore™, donde se aplicó CCL20 libre sobre anticuerpos monoclonales que habían sido capturados en un chip sensor. En los ensayos Biacore™, los anticuerpos HC2/LK3 y HC2/LC3 presentaron una unión fuerte con CCL20, que fue comparable a la que presentó el anticuerpo quimérico progenitor 36F7C10-hFc (figura 11D). Además, se estableció que la reacción pequeña contra CXCL4 que se había observado en la figura 11B era insignificante en los ensayos Biacore™

(figura 11D).

[0268] Por medio de un análisis filogenético, Dereeper *et al.* (*Nucleic Acids Res.* 1(36):W465-469 (2008)) habían indicado que CCL16 es la quimioquina que presenta la secuencia más cercana a CCL20, aunque el porcentaje de identidad entre CCL20 y CCL16 es menor que 37,5 % (solamente hay homología en 56 de los 70 aminoácidos que constituyen el péptido CCL20 maduro (SIM – Herramienta de Alineamiento para Secuencias de Proteínas, Instituto Suizo de Bioinformática); figura 12). Se usó un análisis Biacore™ para determinar si los anticuerpos HC2/LK3 y HC2/LC3 reaccionaban de manera transversal con CCL16. Se inmovilizó un anticuerpo monoclonal de ratón contra el fragmento Fc humano en las cuatro celdas de flujo de un chip CM5, con una velocidad de flujo de 25 µl/minuto, con un amortiguador HBS-EP que contenía 0,2 mg/ml de BSA. Posteriormente, en las celdas de flujo 2, 3 y 4 se inyectaron 50 µl de una solución con 1 µg/ml del anticuerpo quimérico, del anticuerpo HC2/LC3 o del anticuerpo HC2/LK3, respectivamente, en un amortiguador HBS-EP con 0,2 mg/ml de BSA. Luego se inyectaron 150 µl de una solución 100 nM de CCL20 o de CCL16 en el amortiguador HBS-EP (o en un amortiguador solo) con 0,2 mg/ml de BSA en las cuatro celdas de flujo, con una velocidad de flujo de 40 µl/minuto. Se monitoreó la disociación durante 20 minutos. Se usó la celda de flujo 1 (que contenía el anticuerpo contra el fragmento Fc humano solo) como referencia para todas las celdas de flujo.

[0269] Bajo estas condiciones, el anticuerpo quimérico (figura 13A), el anticuerpo HC2/LC3 (figura 13B) y el anticuerpo HC2/LK3 (figura 13B) se unieron a CCL20 humano capturado en el chip con una fuerza similar (figura 13). En contraste, no se detectó una unión significativa cuando se aplicó CCL16 humano sobre el chip, lo que refleja que, aunque CCL16 es la quimioquina que presenta la secuencia más cercana a la de CCL20, CCL20 o CCL16, no presenta una homología

suficiente (<37 %, tal como se indicó con anterioridad) para permitir que los anticuerpos humanizados anti-CCL20 reaccionen de manera transversal con CCL16.

[0270] Con estos datos, se demuestra que HC2/LK3 y HC2/LC3 presentan especificidad por CCL20 humano, en comparación con otras quimioquinas.

Ejemplo 7. Reactividad transversal de los anticuerpos monoclonales anti-CCL20 humano humanizados con ortólogos de otras especies

[0271] Posteriormente, se determinó la reactividad transversal de los anticuerpos monoclonales HC2/LC3 y HC2/LK3 con CCL20 de otras especies. Sobre la base de los alineamientos que se realizaron con las secuencias de aminoácidos de diversos ortólogos de CCL20 (que se obtuvieron usando SIM –Herramienta de Alineamiento para Secuencias de Proteínas, Instituto Suizo de Bioinformática)), puede concluirse que la identidad entre CCL20 de mono cangrejero o de macaco Rhesus y CCL20 humano es de 86 %, mientras que la homología entre CCL20 de ratón y CCL20 humano es de 64 % (figura 14; CCL20 humano – SEQ ID N.º 85; CCL20 de macaco Rhesus – SEQ ID N.º 86; CCL20 de mono cangrejero – SEQ ID N.º 87; CCL20 de ratón parcial – SEQ ID N.º 88; la secuencia de aminoácidos completa de CCL20 humano de ratón puede hallarse en SEQ ID N.º 102, donde los residuos 1-27 constituyen la secuencia señal, según puede observarse en la tabla 18).

[0272] Para determinar si el anticuerpo quimérico y el anticuerpo humanizado pueden unirse a los ortólogos de CCL20 de ratón, de mono cangrejero o de macaco Rhesus, se usaron ensayos de ELISA, tal como se ilustra en la figura 15. Se diseñaron proteínas de fusión recombinantes que comprendían una fosfatasa alcalina secretada (SEAP) y una quimioquina para todos los ortólogos de CCL20 que se evaluaron, tal como se describe en el ejemplo 2, se las expresó y se las

purificó. Se recubrieron placas negras de fondo plano Nunc MaxiSorb con 1 µg/ml de una fosfatasa alcalina placentaria de ratón anti-humana (Pierce, cat. n.º MA1-19354) en bicarbonato de sodio 50 mM, a un pH de 9,4, durante la noche a 4ºC. Luego se bloquearon las placas usando solución salina amortiguada con fosfato 1x, con Tween-20 (PBST) con 5 % de albúmina de suero bovino (BSA), durante 2 horas a temperatura ambiente. Se sometieron las proteínas de fusión SEAP-CCL20 en una concentración de 20 nM a una dilución al 5º en serie con el medio Opti-MEM (Invitrogen). El anticuerpo quimérico y el anticuerpo humanizado (HC2/LC3 y HC2/LK3) se diluyeron hasta 1 µg/ml en PBST 1x con 5 % de BSA, se los agregó a las placas y se los incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego se lavaron las placas tres veces con PBST 1x con 5 % de BSA. Se diluyó un anticuerpo de cabra contra la IgG y la IgM humanas (H+L) conjugado con HRP (Jackson ImmunoResearch, cat. n.º 109-035-127) hasta 80 ng/ml, se lo agregó a la placa y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Se agregó el sustrato fluorescente para la HRP QuantaBlu (Pierce, cat. n.º 15169) para detectar el anticuerpo unido. Para ello, se midió la fluorescencia en un lector de placas Molecular Devices M5 (con una excitación a 325 nm y una emisión a 420 nm).

[0273] Si bien el anticuerpo monoclonal de hámster anti-CCL20 de ratón 2F5-5 se unió a CCL20 de ratón con una dosis eficaz al 50 % (EC_{50}) de 64 pM (datos no presentados), ni el anticuerpo quimérico ni el anticuerpo humanizado anti-CCL20 humano presentaron una unión detectable con CCL20 de ratón o de rata CCL20 bajo las condiciones que se describieron con anterioridad. En contraste, el anticuerpo quimérico y el anticuerpo humanizado se unieron de manera efectiva a CCL20 humano, de macaco Rhesus y de mono cangrejero (figuras 16A-C y 17A y B). Si bien la EC_{50} para CCL20 humano y de macaco Rhesus pareció similar (por ejemplo, 62 y 101 pM para HC2/LC3), la EC_{50} para CCL20 de mono cangrejero fue de 340 pM para HC2/LC3, lo que representa una diferencia de 5,4 veces en

comparación con CCL20 humano. Se observaron resultados similares con HC2/LK3. Esto reflejaría que es necesaria una concentración muy superior del anticuerpo para obtener una unión de la misma magnitud a CCL20 mono cangrejero, en comparación con CCL20 humano o de macaco Rhesus.

Ejemplo 8. Ensayos de resonancia de plasmón superficial para determinar la reactividad transversal de los anticuerpos monoclonales anti-CCL20 humanizados con ortólogos de CCL20 de otras especies

[0274] También se usó un análisis de resonancia de plasmón superficial (Biacore™) para determinar si HC2/LC3 y HC2/LK3 podían unirse a los ortólogos de CCL20 de ratón, de mono cangrejero o de macaco Rhesus. Se inmovilizó una fosfatasa alcalina placentaria de ratón anti-humana en las cuatro celdas de flujo de un chip CM5, con una velocidad de flujo de 25 µl/minuto. Se inyectaron 25 µl de una solución 2 nM de CCL20-SEAP humano, de macaco Rhesus, de mono cangrejero o de ratón, en un amortiguador HBS-EP, en las celdas de flujo 2, 3 y 4. Para analizar la unión a los anticuerpos, se inyectaron 240 µl de diluciones 0-80 nM de HC2/LC3, de HC2/LK3 o del anticuerpo monoclonal 2F5-5 en el amortiguador HBS-EP (o en un amortiguador solo) en las cuatro celdas de flujo, con una velocidad de flujo de 50 µl/minuto. Se monitoreó la disociación durante 45 minutos. Se usó la celda de flujo 1 (que contenía el anticuerpo anti-SEAP solo) como referencia para todas las celdas de flujo. Las celdas de flujo se regeneraron con glicina 10 mM a un pH de 2,25. Debido a los efectos de la regeneración sobre la capacidad de captura de los chips, las inyecciones con los anticuerpos se efectuaron de manera secuencial, desde la concentración más baja hasta la

concentración más alta. Los datos se ajustaron usando un modelo de Langmuir 1:1.

[0275] Bajo las condiciones descriptas, el anticuerpo de hámster anti-CCL20 de ratón 2F5-5 se unió a CCL20 de ratón con una K_D (bivalente) de 4,9 pM, pero no presentó una unión significativa con CCL20 humano, de macaco Rhesus o de mono cangrejero. En contraste, el anticuerpo quimérico, el anticuerpo HC2/LC3 y el anticuerpo HC2/LK3 se unieron de manera eficaz a CCL20 humano, de macaco Rhesus y de mono cangrejero (tabla 17).

[0276] Los valores de la afinidad aparente que se determinaron en este ensayo fueron mayores que los que se habían determinado con anterioridad en el ejemplo 5 (por ejemplo, 4,7 pM para HC2/LC3 en este ensayo, en comparación con 44 pM, véase la tabla 3), a causa de la naturaleza bivalente (la mayor afinidad) del formato del ensayo usado (en comparación con el formato monovalente que se empleó para obtener los datos que se proveen en la tabla 15). Los valores de la K_D para CCL20 de macaco Rhesus y de mono cangrejero generalmente fueron mayores (el triple) que para CCL20 humano, lo que refleja que los anticuerpos se unieron con mayor especificidad a CCL20 humano. Sin embargo, en contraste con los datos del ELISA del ejemplo 7, no se observaron diferencias significativas entre la afinidad de unión por CCL20 de macaco Rhesus o de mono cangrejero.

Tabla 17. Evaluación de la unión de los anticuerpos monoclonales anti-CCL20 humanizados a los ortólogos de CCL20, determinada con un ensayo Biacore™

Anticuerpo	Ligando	k_a (x 10^5 M^-	k_d (x 10^{-5}	K_D (pM)

		^{1}segundo^{-1})	segundo^{-1})	
Clon quimérico 36F7C10[a]	hCCL20	29	2,08	7,16
	rCCL20	29,4	1,78	6,05
	cCCL20	38,3	5,04	13,2
HC2/LC3	hCCL20	56,9	2,68	4,71
	rCCL20	41,3	7,51	18,2
	cCCL20	86,4	13,4	15,5
HC2/LK3	hCCL20	28,8	3,39	11,8
	rCCL20	26,3	8,21	31,2
	cCCL20	52,8	14,9	28,3
Anticuerpo de hámster anti-ratón 2F5-5[b]	hCCL20	Sin unión	Sin unión	Sin unión
	rCCL20	Sin unión	Sin unión	Sin unión
	cCCL20	Sin unión	Sin unión	Sin unión
	mCCL20	9,63	0,474	4,92

[a]Con anterioridad, se había demostrado que no se une a mCCL20

[b]Los datos del anticuerpo de hámster anti-ratón se obtuvieron con el chip anterior

Ejemplo 9. Mapeo de epitopes con el clon de ratón anti-CCL20 humano 36F7C10

[0277] Para determinar los epitopes de CCL20 humano a los que se une el anticuerpo monoclonal de ratón anti-CCL20 humano 36F7C10, se usó un método de intercambio de hidrógeno/deuterio en el cual, a través de la unión del

anticuerpo, se protege y se preserva la deuteración de los epitopes. Tal como se ilustra en la figura 18A, se observaron perturbaciones notables cerca del extremo N de CCL20 humano, en los residuos 7-9, 10-19 y 20-22, que posiblemente representan uno o más epitopes. También se observó una protección marginal cerca del extremo C, en los residuos 39-55, 56-67 y 61-70. Estos segmentos pueden ser periféricos con relación a los uno o más epitopes, o sus movimientos respiratorios pueden estar conjugados con ellos. El nivel de deuteración de cada aminoácido indicado se representa en cuatro puntos de tiempo (desde la parte superior, 150 segundos, 500 segundos, 1500 segundos y 5000 segundos).

[0278] Las regiones que se identificaron como epitopes para 36F7C10 se encuentran cerca de las regiones hacia el extremo N y del rizo de CCL20, de las que se sabe que son críticas para la unión a CCR6 y la señalización (Malik *et al.*, *Acta Cryst* F62:631-634 (2006); figura 18B). Se espera que los anticuerpos quiméricos y los anticuerpos humanizados que deriven de 36F7C10, especialmente los anticuerpos que presenten secuencias de aminoácidos idénticas a las de 36F7C10 en la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la cadena pesada y la cadena liviana, o los anticuerpos que presenten secuencias de aminoácidos similares a las de 36F7C10 en la CDR1, la CDR2 y la CDR3 (por ejemplo, con menos de 3, 2 o 1 sustitución de aminoácidos, en comparación con las CDR de 36F7C10), puedan unirse al mismo epitope. Por consiguiente, mediante la identificación de este epitope puede explicarse la capacidad del anticuerpo monoclonal 36F7C10, del anticuerpo quimérico y de los anticuerpos humanizados derivados de ellos de neutralizar la actividad de CCL20.

Ejemplo 10. Ensayo de quimiotaxis *in vivo* con anticuerpos humanizados anti-CCL20 humano

[0279] Para determinar si HC2/LC3 y HC2/LK3 pueden inhibir la quimiotaxis inducida por CCL20 *in vivo*, se aprovechó el hecho de que CCL20 humano puede interactuar con CCR6 de ratón (SEQ ID N.º 106) para inducir quimiotaxis entre las células T de ratón (figura 19). Se usó un sistema híbrido *in vivo* para medir la migración de las células T de ratón hacia CCL20 humano inyectado por vía intradérmica (figura 20).

[0280] Por vía intradérmica, se inyectó CCL20 humano recombinante (10 ng/cabeza) y el vehículo en la piel afeitada de los lados izquierdo y derecho, respectivamente, del dorso de los ratones de prueba (en grupos de 3). Luego se transfirieron células T de bazo de ratón marcadas con calceína-AM (a razón de 5 x 10^6 células/ratón), por vía intravenosa, en la vena caudal, con la inyección simultánea de los anticuerpos indicados en la vena caudal, en las dosis que se detallan en la figura 20. Después de una hora, se contaron las células fluorescentes positivas en el sitio de las inyecciones intradérmicas usando un microscopio estereoscópico.

[0281] Tanto HC2/LK3 como HC2/LC3 inhibieron significativamente la migración de las células hacia los sitios donde se había inyectado CCL20, en un nivel comparable al que se obtuvo con el anticuerpo progenitor de ratón 36F7C10 o con su forma quimérica. Debido a que la quimiotaxis de las células T es un paso fundamental en la cascada inflamatoria, la prevención de esta migración tiene

implicaciones clínicas en el tratamiento de las afecciones autoinmunes e inflamatorias.

Ejemplo 11. Efecto del anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre la artritis tipo II inducida con colágeno

[0282] Para analizar con mayor detalle la posibilidad de usar los anticuerpos anti-CCL20 para propósitos terapéuticos, se llevaron a cabo estudios *in vivo* adicionales en ratones donde se usó el anticuerpo monoclonal de hámster anti-ratón 2F5-5. Primero, se evaluó la capacidad de 2F5-5 de neutralizar la quimiotaxis mediada por CCL20 en ratones con CIA (un modelo de artritis reumática en animales). La CIA se indujo esencialmente como se describe en el ejemplo 1. Una vez desarrollada la artritis (es decir, una calificación de la artritis de 1-3), se distribuyeron los ratones al azar y se los trató con 500 µg/ratón del anticuerpo monoclonal 2F5-5 o de un anticuerpo control del tipo de la IgG. En ambos casos, el anticuerpo se administró día por medio por vía intravenosa. En comparación con el anticuerpo control del tipo de la IgG, el anticuerpo monoclonal 2F5-5 inhibió el progreso de los síntomas de la artritis (figuras 21 y 22).

[0283] También se usó un análisis de rayos X para determinar los efectos del anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre las lesiones en los huesos que frecuentemente se observan en la artritis reumática. La calificación se realizó como se describe en Inoue *et al.*, *Agents Actions* 39:187-194 (1993). En resumen, cada pata de los ratones con CIA se calificó con una escala entre 0 y 3, en función de la severidad de la osteoporosis (O), la erosión en los huesos (E) y la formación

de huesos nuevos (N), sobre la base de imágenes obtenidas con rayos X. En la escala usada, 0 representó la ausencia de cambios, 1 representó la presencia de cambios ligeros, 2 representó la presencia de cambios moderados y 3 representó la presencia de cambios severos. Se sumaron las calificaciones de cada factor para desarrollar una calificación acumulativa para las lesiones en los huesos basada en el análisis de rayos X. El día 39, los ratones que habían sido tratados con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 presentaron calificaciones basadas en el análisis de rayos X que fueron notablemente menores que las que se determinaron en los ratones que habían sido tratados con el anticuerpo control del tipo de la IgG (figuras 23 y 24).

[0284] Se confirmó el efecto del tratamiento con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre la patología en los huesos analizando diversos marcadores biológicos con un ELISA. Los ratones con CIA fueron inmunizados y tratados con 500 µg del anticuerpo 2F5-5 o del anticuerpo control del tipo de la IgG, según se describió con anterioridad. Se prepararon muestras del plasma de los ratones el día 11 o 12 después de la segunda inmunización. Se cuantificó un marcador de la destrucción de los cartílagos, la proteína oligomérica de la matriz del cartílago en el suero (COMP), usando el conjunto de elementos de immunoensayo con enzimas ELISA para COMP en animales (AnaMar Medical), de acuerdo con las instrucciones del fabricante (que se incorporan en la presente a modo de referencia), excepto que las muestras del plasma de los animales fueron sometidas a una dilución de 1:20. Debido a que la COMP se aplica como recubrimiento sobre la placa con antelación, se trata de un ELISA de competición, de modo que la adición de una

referencia de COMP o de plasma que contiene COMP da como resultado una disminución en la OD_{450} (figura 25A). En las figuras 25B y 25C se proveen los datos en bruto de una muestra del ensayo. Los niveles de la COMP en el suero de los ratones con CIA se redujeron hasta alcanzar niveles prácticamente normales cuando se aplicó el tratamiento con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 (figura 26), con lo que se demuestra la capacidad de 2F5-5 de inhibir la destrucción de los cartílagos.

[0285] Debido a que la formación y la diferenciación de los osteoclastos dan como resultado la osteoporosis y la erosión asociadas a la RA, se determinaron los niveles del receptor del activador del factor nuclear inductor de los oesteoclastos κB (RANKL) y de otros marcadores de los osteoclastos, a saber, el receptor del activador del factor nuclear κB (RANK), la fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP) y la catepsina K, como indicadores del éxito de la terapia de la artritis. Se analizaron los niveles de expresión del ARNm de estos marcadores por medio de una PCR cuantitativa donde se empleó ARN total aislado de patas de ratón homogenizadas. Primero, las patas se homogenizaron con un homogenizador, después de embeberlas en un amortiguador para lisar tejidos que contenía el reactivo Trizol (Invitrogen, CA, EE. UU.). Después de agregar cloroformo, se centrifugaron las muestras a 14000 rpm, durante 15 minutos a 4°C, de manera tal de dividir la solución en una fase acuosa y una fase orgánica. Se recuperó la fase acuosa y se le agregó isopropanol, a lo que siguió una centrifugación a 14000 rpm durante 15 minutos a 4°C, con el propósito de obtener precipitados de ARN. Se usaron precipitados de ARN disueltos con agua libre de ARNasas en un conjunto

de elementos RNAeasy mini (QIAGEN, Valencia, CA, EE. UU.) para aislar el ARN, después de lo cual se aplicó un tratamiento con una ADNasa para remover el ADN. El ADN complementario (ADNc) se generó con un conjunto de elementos para llevar a cabo una reacción con una transcriptasa inversa (el conjunto de elementos de PCR con ARN de TAKARA Bio, Inc. Shiga, Japón), de acuerdo con el protocolo del fabricante. Se llevó a cabo una PCR cuantitativa en tiempo real con cada especie de ADNc y se compararon los resultados obtenidos con el nivel de un gen de mantenimiento, el gen de la hipoxantina guanina fosforribosil transferasa (HPRT). En las reacciones de PCR, se emplearon los siguientes conjuntos de cebadores directos e inversos:

RANKL, 5'-CATTTGCACACCTCACCATC-3' (SEQ ID N.º 89) y
5'-TCCGTTGCTTAACGTCATGT-3' (SEQ ID N.º 90);
RANK, 5'-CGGCGTTTACTACAGGAAGG-3' (SEQ ID N.º 91) y
5'-TTCTTGCTGACTGGAGGTTG-3' (SEQ ID N.º 92);
TRAP, 5'-GCTGGAAACCATGATCACCT-3' (SEQ ID N.º 93) y
5'-GGTAGTAAGGGCTGGGGAAG-3' (SEQ ID N.º 94);
Catepsina K, 5'-CAGTGTTGGTGGTGGGCTAT-3' (SEQ ID N.º 95) y
5'-CCGAGCCAAGAGAGCATATC-3' (SEQ ID N.º 96); y
HPRT, 5'-CAGGCCAGACTTTGTTGGAT-3' (SEQ ID N.º 97) y
5'-TTGCGCTCATCTTAGGCTTT-3' (SEQ ID N.º 98).

Todos los cebadores se diseñaron usando el software de Internet Primer 3 (del Instituto de Investigación Biomédica Whitehead, Cambridge, MA, EE. UU.) para evitar la amplificación no específica del ARN. En la reacción de amplificación,

se emplearon mezclas con el ADNc molde, los cebadores, una uracilo ADN glucosilasa (Invitrogen, CA, EE. UU.) y la mezcla maestra para PCR QuantiTect SYBR Green (QIAGEN, Valencia, CA, EE. UU.), en un sistema de detección de secuencias ABI PRISM 7700 (Applied Biosystems, Foster, CA, EE. UU.). Los niveles de expresión fueron cuantificados automáticamente con el software detector de secuencias ABI PRISM 7700.

[0286] Una vez realizado el tratamiento con el anticuerpo monoclonal 2F5-5, se suprimieron los niveles del ARNm de todos los marcadores en el tejido de las articulaciones (en las figuras 27A y B se ilustra el cambio en veces en la expresión, en comparación con el gen de mantenimiento de la HPRT), lo que constituye una evidencia adicional de que 2F5-5 inhibe la patología en los huesos *in vivo*.

Ejemplo 12. Efectos del anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre la artritis inducida con glucosa-6-fosfato isomerasa

[0287] Se evaluaron los efectos antiartríticos del tratamiento con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 en ratones que padecían artritis inducida con glucosa-6-fosfato isomerasa (G6PI), otro modelo de RA en ratones. La artritis se indujo a través de una sensibilización intradérmica con GST-G6PI recombinante (a razón de 300 µg/ratón) emulsionada en el coadyuvante completo de Freund, que se inyectó en la base de la cola de ratones DBA/1. Seis días después de la inmunización con G6PI y justo antes del comienzo de la etapa de hinchazón de las articulaciones, se distribuyeron los ratones al azar y se los trató con 500 µg/ratón de un anticuerpo

con el mismo isotipo o del anticuerpo monoclonal 2F5-5. La severidad de los síntomas de la artritis en las patas de cada ratón se calificó como se describió con anterioridad en el ejemplo 1. Los ratones que fueron tratados con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 presentaron calificaciones de la artritis significativamente más bajas que los ratones que fueron tratados con los anticuerpos del mismo isotipo, con lo que se demuestra que 2F5-5 suprime notablemente el desarrollo de la artritis, en comparación con el control (figura 28).

[0288] Con estos datos, puede demostrarse la eficacia del tratamiento con el anticuerpo anti-CCL20 en modelos de artritis *in vivo*. A partir de esto, puede concluirse que el uso de anticuerpos anti-CCL20 puede ser beneficioso para tratar la artritis reumática.

Ejemplo 13. Efecto del anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre la dermatitis atópica inducida con oxazolona

[0289] Posteriormente, se evaluó el efecto del tratamiento con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 en modelos de dermatitis en ratones. En un modelo, se usó oxazolona para inducir dermatitis atópica en ratones que eran susceptibles a la enfermedad (de la cepa NC/Nga). Se afeitó la piel abdominal de los ratones y se la expuso a oxazolona los días 0, 5 y 8. El día 13, se seleccionaron los ratones que presentaban signos de dermatitis (es decir, una calificación de 2) y se los inmunizó nuevamente con oxazolona. Después, los ratones se distribuyeron al azar en grupos de seis para tratarlos con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 o con un anticuerpo control del tipo de la IgG con el mismo isotipo (a razón de 500 µg/ratón,

con una administración intravenosa día por medio). Se determinaron las calificaciones de la dermatitis en un estudio a ciegas, según se describe a continuación. Cada síntoma de la dermatitis, por ejemplo, la sequedad, la formación de escamas, el eritema, la exudación o la formación de costras y la excoriación, se calificó con una escala entre 0 y 3 (donde 0 representa la ausencia de síntomas, 1 representa la presencia de síntomas leves, 2 representa la presencia de síntomas moderados y 3 representa la presencia de síntomas severos). Las calificaciones se sumaron para obtener una calificación acumulativa para la dermatitis (según se describe en Leung *et al.*, *J. Allergy Clin. Immunol.* 85(5):927-933 (1990)). Se comparó la magnitud de la supresión de la enfermedad entre los dos grupos cuantificando el área bajo la curva ("AUC") entre el día 13 y el día 18. En este modelo de dermatitis, el anticuerpo monoclonal 2F5-5 indujo una supresión de significación estadística ($p < 0,05$) del progreso de la enfermedad, en comparación con el anticuerpo control del tipo de la IgG (figura 29).

Ejemplo 14. Efecto del anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre la dermatitis de contacto alérgica inducida con DNFB

[0290] Se evaluó el efecto del tratamiento con el anticuerpo monoclonal 2F5-5 sobre la dermatitis de contacto alérgica inducida con dinitrofluorobenceno (DNFB), un segundo modelo de dermatitis en ratones. Los ratones se distribuyeron en grupos de 6 y se sensibilizaron aplicando 25 µl de una solución de DNFB (DNFB al 0,4 % en una mezcla 4:1 de acetona y aceite de oliva) con un pincel en el abdomen afeitado, en dos días consecutivos (los días 0 y 1). Un grupo fue tratado con el anticuerpo monoclonal 2F5-5, mientras que el otro grupo fue tratado con un anticuerpo control con el mismo isotipo (a razón de 500 µg/ratón, que se aplicaron

por vía intravenosa los días 0, 2 y 5). El día 5, los ratones fueron atacados nuevamente: se les aplicaron 20 µl de una solución de DNFB al 0,4 % (en una mezcla 4:1 de acetona y aceite de oliva) en un lado de una oreja. El día 6, usando un calibre, se determinó el grosor de la oreja como un indicador del edema. A través del tratamiento con el anticuerpo monoclonal 2F5-5, fue posible reducir el grosor de las orejas, lo que es indicativo de una prevención exitosa del desarrollo de la dermatitis (figura 30).

[0291] Todas las publicaciones, las patentes y las solicitudes de patentes que se citan en esta memoria descriptiva se incorporan en la presente a modo de referencia. Aunque la presente invención ha sido descripta con un cierto grado de detalle con fines ilustrativos y a modo de ejemplo, con el propósito de facilitar su comprensión, para aquellos versados en la técnica ha de resultar evidente la posibilidad de efectuar determinados cambios y modificaciones, particularmente a la luz de las enseñanzas que se proveen en la presente, sin apartarse del espíritu y el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Tabla 18. Secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de CCL20 y CCR6 humanos y de ratón

Descripción	Tipo de secuencia	SEQ ID N.º (las secuencias señal están subrayadas)	SEQ ID N.º
CCL20 humano con la secuencia señal	Aminoácidos	mcctksllaalmsvlllhlcgeseaasnfdcclgytdril hpkfivgftrqlanegcdinaiifhtkkklsvcanpkqtwv kyivrllskkvknm	85
	Nucleótidos	atgtgctgtaccaagagtttgctcctggctgctttgatgtc agtgctgctactccacctctgcggcgaatcagaagcagcaa gcaactttgactgctgtcttggatacacagaccgtattctt catcctaaatttattgtgggcttcacacggcagctggccaa tgaaggctgtgacatcaatgctatcatctttcacacaaaga aaaagttgtctgtgtgcgcaaatccaaaacagacttgggtg aaatatattgtgcgtctcctcagtaaaaaagtcaagaacat g	101
CCL20 humano sin la secuencia	Aminoácidos	asnfdcclgytdrilhpkfivgftrqlanegcdinaiifht kkklsvcanpkqtwvkyivrllskkvknm	99
	Nucleótidos	gcaagcaactttgactgctgtcttggatacacagaccgtat tcttcatcctaaatttattgtgggcttcacacggcagctgg	100

señal		ccaatgaaggctgtgacatcaatgctatcatctttcacaca aagaaaaagttgtctgtgtgcgcaaatccaaaacagacttg ggtgaaatatattgtgcgtctcctcagtaaaaaagtcaaga acatg	
CCL20 con la secuencia señal	Aminoácidos	macggkrllflalawvllahlcsqaeaasnydcclsyiqtp lpsraivgftrqmadeacdinaiifhtkkrksvcadpkqnw vkravnllslrvkkm	102
	Nucleótidos	atggcctgcggtggcaagcgtctgctcttccttgctttggc atgggtactgctggctcacctctgcagccaggcagaagcag caagcaactacgactgttgcctctcgtacatacagacgcct cttccttccagagctattgtgggtttcacaagacagatggc cgatgaagcttgtgacattaatgctatcatctttcacacga agaaaagaaaatctgtgtgcgctgatccaaagcagaactgg gtgaaaagggctgtgaacctcctcagcctaagagtcaagaa gatg	103
CCR6 humano	Aminoácidos	msgesmnfsdvfdssedyfvsvntsyysvdsemllcslqev rqfsrlfvpiayslicvfgllgnilvvitfafykkarsmtd vyllnmaiadilfvltlpfwavshatgawvfsnatcklkg iyainfncgmlllticismdryiaivqatksfrlrsrtlprs kiiclvvwglsviissstfvfnqkyntqgsdvcepkyqtvs epirwkllmlglellfgffiplmfmifcytfivktlvqaqn skrhkairviiavvlvflacqiphnmvllvtaanlgkmnrs cqsekligytktvtevlaflhcclnpvlyafigqkfrnyfl kilkdlwcvrrkykssgfscagrysenisrqtsetadndna ssftm	104
	Nucleótidos	atgagcggggaatcaatgaatttcagcgatgttttcgactc cagtgaagattattttgtgtcagtcaatacttcatattact cagttgattctgagatgttactgtgctccttgcaggaggtc aggcagttctccaggctatttgtaccgattgcctactcctt gatctgtgtctttggcctcctggggaatattctggtggtga tcacctttgctttttataagaaggccaggtctatgacagac gtctatctcttgaacatggccattgcagacatcctctttgt tcttactctcccattctgggcagtgagtcatgccaccggtg cgtgggttttcagcaatgccacgtgcaagttgctaaaaggc atctatgccatcaactttaactgcgggatgctgctcctgac ttgcattagcatggaccggtacatcgccattgtacaggcga ctaagtcattccggctccgatccagaacactaccgcgcagc aaaatcatctgccttgttgtgtgggggctgtcagtcatcat ctccagctcaacttttgtcttcaaccaaaaatacaacaccc aaggcagcgatgtctgtgaacccaagtaccagactgtctcg gagcccatcaggtggaagctgctgatgttggggcttgagct actctttggtttctttatccctttgatgttcatgatatttt gttacacgttcattgtcaaaaccttggtgcaagctcagaat tctaaaaggcacaaagccatccgtgtaatcatagctgtggt gcttgtgtttctggcttgtcagattcctcataacatggtcc tgcttgtgacggctgcaaatttgggtaaaatgaaccgatcc tgccagagcgaaaagctaattggctatacgaaaactgtcac agaagtcctggctttcctgcactgctgcctgaaccctgtgc tctacgcttttattgggcagaagttcagaaactactttctg aagatcttgaaggacctgtggtgtgtgagaaggaagtacaa gtcctcaggcttctcctgtgccgggaggtactcagaaaaca tttctcggcagaccagtgagaccgcagataacgacaatgcg tcgtccttcactatg	105
CCR6 de	Aminoácidos	mnstesyfgtddydnteyysippdhgpcsleevrnftkvfv piayslicvfgllgnimvvmtfafykkarsmtdvyllnmai	106

ratón		tdilfvltlpfwavthatntwvfsdalcklmkgtyavnfnc gmlllacismdryiaivqatksfrvrsrtlthskvicvavw fisiiissptfifnkkyelqdrdvcepryrsvsepitwkll gmglelffgfftpllfmvfcylfiiktlvqaqnskrhrair vviavvlvflacqiphnmvllvtavntgkvgrscstekvla ytrnvaevlaflhcclnpvlyafigqkfrnyfmkimkdvwc mrrknkmpgflcarvysesyisrgtsetvendnassftm	
	Nucleótidos	atgaattccacagagtcctactttggaacggatgattatga caacacagagtattattctattcctccagaccatgggccat gctccctagaagaggtcagaaacttcaccaaggtatttgtg ccaattgcctactccttaatatgtgtctttggcctcctggg caacattatggtggtgatgacctttgccttctacaagaaag ccagatccatgactgacgtctacctgttgaacatggccatc acagacatactctttgtcctcaccctaccgttctgggcagt tactcatgccaccaacacttgggttttcagcgatgcactgt gtaaactgatgaaaggcacatatgcggtcaactttaactgt gggatgctgctcctggcctgtatcagcatggaccggtacat tgccatcgtccaggcaaccaaatctttccgggtacgctcca gaacactgacgcacagtaaggtcatctgtgtggcagtgtgg ttcatctccatcatcatctcaagccctacatttatcttcaa caagaaatacgagctgcaggatcgtgatgtctgtgagccac ggtacaggtctgtctcagagcccatcacgtggaagctgctg ggtatgggactggagctgttctttgggttcttcaccccttt gctgtttatggtgttctgctatctgttcattatcaagacct tggtgcaggcccagaactccaagaggcacagagcaatccga gtcgtgatcgctgtggttctcgtgttcctggcttgtcagat ccctcacaacatggtcctcctcgtgactgcggtcaacacgg gcaaagtgggccggagctgcagcaccgagaaagtcctcgcc tacaccaggaacgtggccgaggtcctggctttcctgcattg ctgcctcaaccccgtgttgtatgcgtttattggacagaaat tcagaaactacttcatgaagatcatgaaggatgtgtggtgt atgagaaggaagaataagatgcctggcttcctctgtgcccg ggtttactcggaaagctacatctccaggcagaccagtgaga ccgtcgaaaatgataatgcatcgtcctttaccatg	107

Tabla 19. Números de los identificadores de secuencias

SEQ ID N.º	Descripción		
1	HC2	Cadena pesada completa (HC)	Secuencia de aminoácidos
2	HC3		
3	36HKK3		
4	42HKK1		
5	42HKK2		
6	42HKK3		
7	LC3	Cadena liviana completa (LC)	
8	LK3		
9	HC2	Dominio variable de la cadena pesada (VH)	
10	HC3		
11	36HKK3		
12	42HKK1		
13	42HKK2		
14	42HKK3		

15	LC3	Dominio variable de la cadena liviana (VL)	
16	LK3		
17	HC2	Cadena pesada completa (HC)	Secuencia de nucleótidos
18	HC3		
19	36HKK3		
20	42HKK1		
21	42HKK2		
22	42HKK3		
23	LC3	Cadena liviana completa (LC)	
24	LK3		
25	HC2	Dominio variable de la cadena pesada (VH)	
26	HC3		
27	36HKK3		
28	42HKK1		
29	42HKK2		
30	42HKK3		
31	LC3	Dominio variable de la cadena liviana (VL)	
32	LK3		
33	36F7C10	Secuencia señal de la cadena pesada	Secuencia de aminoácidos
34		Secuencia señal de la cadena liviana	
35	40-1C10B9	Secuencia señal de la cadena pesada	
36		Secuencia señal de la cadena liviana	
37	42G5B10	Secuencia señal de la cadena pesada	
38		Secuencia señal de la cadena liviana	
39	36F7C10	VH	
40		VL	
41	40-1C10B9	VH	
42		VL	
43	42G5B10	VH	
44		VL	
45	36F7C10	Secuencia señal de la cadena pesada	Secuencia de nucleótidos
46		Secuencia señal de la cadena liviana	
47	40-1C10B9	Secuencia señal de la cadena pesada	
48		Secuencia señal de la cadena liviana	
49	42G5B10	Secuencia señal de la cadena pesada	
50		Secuencia señal de la cadena liviana	

51	36F7C10	VH	
52		VL	
53	40-1C10B9	VH	
54		VL	
55	42G5B10	VH	
56		VL	
57	Secuencia de la línea germinal IGHV1-46*03		
58	Secuencia de la línea germinal JH4		
59	Secuencia de la línea germinal IGKV1D-39*01		
60	Anticuerpo de ratón 36F7C10 HC2 HC3 36HKK3	H-CDR1 (Kabat)	NYWMH
61	Anticuerpo de ratón 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3		SYWMH
62	IGHV1-46*03/ABM67212		SYYMH
63	Anticuerpo de ratón 36F7C10 HC3 36HKK3	H-CDR2 (Kabat)	VIDPSDSYTTYNQKFKG
64	HC2		VIDPSDSYTTYAQKFQG
65	Anticuerpo de ratón 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3		LIDPSDKYTNYNQKFKG
66	IGHV1-46*03/ABM67212		IINPSGGSTSYAQKFQG
67	Anticuerpo de ratón 36F7C10 HC2 HC3 36HKK3	H-CDR3 (Kabat o Chotia)	GNYGVDYAMDY
68	Ratón 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3		GNYGVDYGMDY
69	ABM67212		EGDGYIQAFDY
70	Anticuerpo de ratón 36F7C10 LK3	L-CDR1 (Kabat o Chotia)	GASENIYGALN
71	LC3		RASENIYGALN
72	IGKV1D-		RASQSISSYLN

	39*01/BAH04867.1			
73	Anticuerpo de ratón 36F7C10 LC3 LK3	L-CDR2 (Kabat o Chotia)	GATNLAD	
74	IGKV1D-39*01/BAH04867.1		AASSLQS	
75	Anticuerpo de ratón 36F7C10 LC3 LK3	L-CDR3 (Kabat o Chotia)	QNVLITPYT	
76	BAH04867.1		QQSYSTPYT	
77	Anticuerpo de ratón 36F7C10 HC2 HC3 36HKK3	H-CDR1 (Chotia)	GYTFTNY	
78	Anticuerpo de ratón 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3 IGHV1-46*03/ABM67212		GYTFTSY	
79	Anticuerpo de ratón 36F7C10 HC2 HC3 36HKK3	H-CDR2 (Chotia)	VIDPSDSYTT	
80	Anticuerpo de ratón 42G5B10 42HKK1 42HKK2 42HKK3		LIDPSDKYTN	
81	IGHV1-46*03/ABM67212		IINPSGGSTS	
82	ABM67212	VH		
83	BAH04867.1	VL		
84	Variante de la secuencia de aminoácidos de CCL20 humano (sin la secuencia señal)			
85	Secuencia de aminoácidos de CCL20 humano (con la secuencia señal)			
86	Secuencia de aminoácidos de CCL20 de macaco Rhesus			
87	Secuencia de aminoácidos de CCL20 de mono cangrejero			
88	Secuencia de aminoácidos de CCL20 de ratón			
89	5'-CATTTGCACACCTCACCATC-3'		RANKL	Cebadores
90	5'-TCCGTTGCTTAACGTCATGT-3'			
91	5'-CGGCGTTTACTACAGGAAGG-3'		RANK	
92	5'-TTCTTGCTGACTGGAGGTTG-3'			

93	5'-GCTGGAAACCATGATCACCT-3'	TRAP	
94	5'-GGTAGTAAGGGCTGGGGAAG-3'		
95	5'-CAGTGTTGGTGGTGGGCTAT-3'	Catepsina K	
96	5'-CCGAGCCAAGAGAGCATATC-3'		
97	5'-CAGGCCAGACTTTGTTGGAT-3'	HPRT	
98	5'-TTGCGCTCATCTTAGGCTTT-3'		
99	Secuencia de aminoácidos de CCL20 humano (sin la secuencia señal)		
100	Secuencia de nucleótidos de CCL20 humano (sin la secuencia señal)		
101	Secuencia de nucleótidos de CCL20 humano (con la secuencia señal)		
102	Secuencia de aminoácidos de CCL20 de ratón (con la secuencia señal)		
103	Secuencia de nucleótidos de CCL20 de ratón (con la secuencia señal)		
104	Secuencia de aminoácidos de CCR6 humano		
105	Secuencia de nucleótidos de CCR6 humano		
106	Secuencia de aminoácidos de CCR6 de ratón		
107	Secuencia de nucleótidos de CCR6 de ratón		
108	Secuencia de aminoácidos completa de HC2 (sin la secuencia señal)		
109	Secuencia de nucleótidos completa de HC2 (sin la secuencia señal)		
110	Secuencia de aminoácidos completa de LC3 (sin la secuencia señal)		
111	Secuencia de nucleótidos completa de LC3 (sin la secuencia señal)		
112	Secuencia de aminoácidos completa de LK3 (sin la secuencia señal)		
113	Secuencia de nucleótidos completa de LK3 (sin la secuencia señal)		
114	Secuencia de aminoácidos parcial de CCL20		
115	Secuencia de aminoácidos parcial de CCL16		

Tabla 20. Secuencias de los anticuerpos humanizados y de ratón

		Secuencias de aminoácidos										Secuencias de nucleótidos			
		HC	LC	VH	VL	H-CDR			L-CDR			HC	LC	VH	VL
						1	2	3	1	2	3				
Cadenas de los anticuerpos anti-CCL20 humano humanizados	HC2	1		9		K: 60 C: 77	K: 64 C: 79	K: 67 C: 67				17		25	
	HC3	2		10		K: 60 C: 77	K: 63 C: 79	K: 67 C: 67				18		26	
	36HKK3	3		11		K: 60 C: 77	K: 63 C: 79	K: 67 C: 67				19		27	
	42HKK1	4		12		K: 61 C: 78	K: 65 C: 80	K: 68 C: 68				20		28	
	42HKK2	5		13		K: 61 C: 78	K: 65 C: 80	K: 68 C: 68				21		29	
	42HKK3	6		14		K: 61 C: 78	K: 65 C: 80	K: 68 C: 68				22		30	
	LC3		7		15				71	73	75		23		31
	LK3		8		16				70	73	75		24		32
Anticuerpos anti-CCL20 humano de ratón	36F7C10			39	40	K: 60 C: 77	K: 63 C: 79	K: 67 C: 67	70	73	75			51	52
	40-1C10B9			41	42									53	54
	42G5B10			43	44	K: 61 C: 78	K: 65 C: 80	K: 68 C: 68						55	56

REIVINDICACIONES MODIFICADAS PARA REALIZAR EL EXAMEN DE PATENTABILIDAD

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE dicho anticuerpo comprende una cadena pesada cuya región de determinación de la complementariedad 3 (CDR3) comprende SEQ ID N.º 67 o 68.

2. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE la región de determinación de la complementariedad 1 (CDR1), la región de determinación de la complementariedad 2 (CDR2) y la región de determinación de la complementariedad 3 (CDR3) de dicha cadena pesada comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

   a) SEQ ID N.º 60, 64 y 67;

   b) SEQ ID N.º 60, 63 y 67;

   c) SEQ ID N.º 61, 65 y 68;

   d) SEQ ID N.º 77, 79 y 67; y

   e) SEQ ID N.º 78, 80 y 68.

3. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE dicho anticuerpo comprende una cadena liviana cuya región de determinación de la complementariedad 3 (CDR3) comprende SEQ ID N.º 75.

4. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 3, CARACTERIZADOS PORQUE la región de determinación de la complementariedad 1 (CDR1), la región de determinación de la complementariedad 2 (CDR2) y la región de

determinación de la complementariedad 3 (CDR3) de dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

a) SEQ ID N.º 70, 73 y 75; y

b) SEQ ID N.º 71, 73 y 75.

5. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 1 o 3, CARACTERIZADOS PORQUE la cadena pesada de dicho anticuerpo comprende una CDR3 que comprende SEQ ID N.º 67 o 68 y la cadena liviana de dicho anticuerpo comprende una CDR3 que comprende SEQ ID N.º 75.

6. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 2 o 4, CARACTERIZADOS PORQUE la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de dicha cadena pesada y la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

a) SEQ ID N.º 60, 64, 67, 70, 73 y 75;

b) SEQ ID N.º 60, 64, 67, 71, 73 y 75;

c) SEQ ID N.º 60, 63, 67, 70, 73 y 75;

d) SEQ ID N.º 60, 63, 67, 71, 73 y 75;

e) SEQ ID N.º 61, 65, 68, 70, 73 y 75;

f) SEQ ID N.º 61, 65, 68, 71, 73 y 75;

g) SEQ ID N.º 77, 79, 67, 70, 73 y 75;

h) SEQ ID N.º 77, 79, 67, 71, 73 y 75;

i) SEQ ID N.º 78, 80, 68, 70, 73 y 75; y

j) SEQ ID N.º 78, 80, 68, 71, 73 y 75.

7. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADOS PORQUE dicho anticuerpo comprende una cadena pesada cuyo dominio variable comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona entre SEQ ID N.º 9-14.

8. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADOS PORQUE dicho anticuerpo comprende una cadena liviana cuyo dominio variable comprende SEQ ID N.º 15 o 16.

9. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, CARACTERIZADOS PORQUE el dominio variable de la cadena pesada y el dominio variable de la cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

   a) SEQ ID N.º 9 y 15;

   b) SEQ ID N.º 9 y 16;

   c) SEQ ID N.º 10 y 16;

   d) SEQ ID N.º 11 y 15;

   e) SEQ ID N.º 11 y 16;

   f) SEQ ID N.º 12 y 16;

   g) SEQ ID N.º 13 y 16; y

   h) SEQ ID N.º 14 y 16.

10. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano CARACTERIZADO PORQUE su cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 1-6, pero sin la secuencia señal, y SEQ ID N.º 108.

11. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano CARACTERIZADO PORQUE su cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 1-6, pero sin la secuencia señal, y SEQ ID N.º 108, donde dicha secuencia de aminoácidos carece de la lisina en el extremo C.

12. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano CARACTERIZADO PORQUE su cadena liviana comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 7 y 8, pero sin la secuencia señal, y SEQ ID N.º 110 y 112.

13. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10-12, CARACTERIZADO PORQUE dicha cadena pesada y dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

    a) SEQ ID N.º 1 y 7;

    b) SEQ ID N.º 1 y 8;

    c) SEQ ID N.º 2 y 8;

    d) SEQ ID N.º 3 y 7;

    e) SEQ ID N.º 3 y 8;

    f) SEQ ID N.º 4 y 8;

    g) SEQ ID N.º 5 y 8;

    h) SEQ ID N.º 6 y 8;

    i) SEQ ID N.º 108 y 110; y

    j) SEQ ID N.º 108 y 112;

    donde estas secuencias de aminoácidos carecen de secuencias señal, y donde SEQ ID N.º 1-6 opcionalmente carecen de la lisina en el extremo

C.

14. Un anticuerpo monoclonal CARACTERIZADO PORQUE su cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108 y su cadena liviana comprende SEQ ID N.º 110.

15. Un anticuerpo monoclonal CARACTERIZADO PORQUE su cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108, pero sin la lisina en el extremo C, y su cadena liviana comprende SEQ ID N.º 110.

16. Un anticuerpo monoclonal CARACTERIZADO PORQUE su cadena pesada comprende SEQ ID N.º 108 y su cadena liviana comprende SEQ ID N.º 112.

17. Un anticuerpo monoclonal CARACTERIZADO PORQUE su cadena pesada comprende SEQ ID N.º 1, pero sin la secuencia señal y sin la lisina en el extremo C, y su cadena liviana comprende SEQ ID N.º 8, pero sin la secuencia señal.

18. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE se une al mismo epitope de CCL20 humano que el anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17.

19. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE compite por la unión a CCL20 humano con el anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17.

20. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE compite de manera

transversal por la unión a CCL20 humano con el anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17.

21. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, CARACTERIZADOS PORQUE el anticuerpo es un anticuerpo humanizado.

22. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, CARACTERIZADOS PORQUE las regiones del marco de trabajo de dicha cadena pesada comprenden un gen IGHV1-46*03 de la línea germinal humana y las regiones del marco de trabajo de dicha cadena liviana comprenden un gen IGKV1D-39*01 de la línea germinal humana.

23. El anticuerpo monoclonal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9 y 18-22, CARACTERIZADO PORQUE dicho anticuerpo comprende un dominio constante de la IgG1, la IgG2, la IgG3 o la IgG4 humana.

24. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE su cadena pesada comprende un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 39, 41 y 43.

25. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE su cadena liviana comprende un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º

40, 42 y 44.

26. El anticuerpo o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 24 o 25, CARACTERIZADOS PORQUE dicha cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 39, 41 y 43 y dicha cadena liviana comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 40, 42 y 44.

27. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 26, CARACTERIZADO PORQUE dicha cadena pesada y dicha cadena liviana comprenden secuencias de aminoácidos que se seleccionan del siguiente grupo, respectivamente:

    a) SEQ ID N.º 39 y 40;

    b) SEQ ID N.º 41 y 42; y

    c) SEQ ID N.º 43 y 44.

28. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE dicho anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende SEQ ID N.º 39 y una cadena liviana que comprende SEQ ID N.º 40.

29. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 24-28, CARACTERIZADOS PORQUE dicho anticuerpo es un anticuerpo quimérico.

30. La porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9, 18-22 y 24-28, CARACTERIZADA PORQUE dicha porción es un anticuerpo de cadena simple, un fragmento Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$ o Fd, un fragmento Fv de cadena simple (scFv), un dímero

biespecífico de fragmentos Fv de cadena simple, un multímero polivalente de fragmentos Fv de cadena simple, un diacuerpo, un anticuerpo del que se ha eliminado un dominio o un anticuerpo con un solo dominio (dAb).

31. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-30, CARACTERIZADOS PORQUE dicho anticuerpo, o una porción de unión al antígeno de este, presenta una o más de las siguientes propiedades:

a) no se une a CCL16 humano;

b) se une a CCL20 de mono cangrejero o de macaco Rhesus, pero no a CCL20 de ratón o de rata;

c) presenta una afinidad de unión por CCL20 humano de 70 pM o menos cuando se la determina usando un ensayo de resonancia de plasmón superficial monovalente;

d) presenta una afinidad de unión por CCL20 humano de 12 pM o menos cuando se la determina usando un ensayo de resonancia de plasmón superficial bivalente;

e) presenta una afinidad de unión por CCL20 humano que es mayor que la afinidad que presenta por CCR6 humano;

f) presenta selectividad por CCL20 humano, en comparación con las quimioquinas humanas CX3CL1, CXCL1, CXCL2, CXCL4, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL12, CXCL13, CXCL16, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL11, CCL13, CCL16, CCL17, CCL19, CCL21, CCL22, CCL24, CCL25, CCL27, CCL28 o XCL1;

g) reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano en las células CCR6+ con una IC_{50} de 1,7 nM o menos;

h) reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano en las células CCR6+ *in vivo*;

i) reduce la quimiotaxis inducida por CCL20 humano en las células CCR6+*in vitro*;

j) reduce el progreso de los síntomas de la artritis en un sujeto;

k) reduce la osteoporosis, la erosión de los huesos o la formación de huesos nuevos en un sujeto;

l) reduce los niveles de la proteína oligomérica de la matriz del cartílago (COMP) en el suero de un sujeto;

m) reduce los niveles del ARNm de RANKL, de RANK, de TRAP de la catepsina K en un sujeto;

n) reduce los síntomas de la dermatitis atópica en un sujeto; y

o) reduce los síntomas de la dermatitis de contacto alérgica en un sujeto.

32. Un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE se une a un epitope de CCL20 humano que comprende una o más secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en

a) los residuos 7-9 de SEQ ID N.º 84;

b) los residuos 10-19 de SEQ ID N.º 84; y

c) los residuos 20-22 de SEQ ID N.º 84.

33. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 32, CARACTERIZADOS PORQUE el epitope

comprende los residuos 7-9, 10-19 y 20-22 de SEQ ID N.º 84.

34. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 32, CARACTERIZADOS PORQUE el epitope también comprende una o más secuencias de aminoácidos que se seleccionan del grupo que consiste en

    a) los residuos 39-55 de SEQ ID N.º 84;

    b) los residuos 56-67 de SEQ ID N.º 84; y

    c) los residuos 61-70 de SEQ ID N.º 84.

35. El anticuerpo monoclonal o la porción de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 34, CARACTERIZADOS PORQUE el epitope comprende los residuos 7-9, 10-19, 20-22, 39-55, 56-67 y 61-70 de SEQ ID N.º 84.

36. Una molécula de ácido nucleico aislada CARACTERIZADA PORQUE codifica la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35.

37. Una molécula de ácido nucleico aislada CARACTERIZADA PORQUE codifica la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35.

38. Una molécula de ácido nucleico aislada CARACTERIZADA PORQUE codifica la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, y la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35.

39. Una molécula de ácido nucleico aislada CARACTERIZADA PORQUE codifica la cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, donde dicha molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 17-22, 25-30 y 109, donde opcionalmente, la secuencia de nucleótidos puede carecer de la porción que codifica la secuencia señal.

40. Una molécula de ácido nucleico aislada CARACTERIZADA PORQUE codifica la cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo monoclonal anti-CCL20 humano, donde dicha molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 23, 24, 31, 32, 111 y 113, donde opcionalmente, la secuencia de nucleótidos puede carecer de la porción que codifica la secuencia señal.

41. La molécula de ácido nucleico aislada de acuerdo con la reivindicación 39 o 40, CARACTERIZADA PORQUE dicha molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 17-22, 25-30 y 109 o comprende una secuencia de nucleótidos como las mencionadas, pero sin la porción que codifica la secuencia señal, y donde dicha molécula de ácido nucleico también comprende una secuencia de nucleótidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID N.º 23, 24, 31, 32 111 y 113 o comprende una secuencia de nucleótidos como las mencionadas, pero sin la porción que codifica la secuencia señal.

42. Uso (1) de una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena

pesada o una porción de unión al antígeno de esta, (2) de una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena liviana o una porción de unión al antígeno de esta o (3) de una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada y una cadena liviana, o porciones de unión al antígeno de estas, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana provienen de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35, CARACTERIZADO PORQUE es como medicamento.

43. Un vector recombinante CARACTERIZADO PORQUE comprende (1) una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, (2) una secuencia de ácido nucleico que codifica, una cadena liviana o una porción de unión al antígeno de esta, o (3) una secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada y una cadena liviana, o porciones de unión al antígeno de estas, donde dicha cadena pesada y dicha cadena liviana provienen de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35.

44. Una célula huésped CARACTERIZADA PORQUE comprende una primera secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena pesada, o una porción de unión al antígeno de esta, de un anticuerpo o una porción de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35, donde dicha primera secuencia de ácido nucleico está unida operativamente a un elemento para controlar la expresión, y una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica una cadena liviana, o una porción de unión al antígeno de esta, de dicho anticuerpo o de dicha porción, donde dicha

segunda secuencia de ácido nucleico está unida operativamente a un elemento para controlar la expresión.

45. Un método para elaborar un anticuerpo anti-CCL20 humano o una porción de unión al antígeno de este, CARACTERIZADO PORQUE comprende mantener una célula huésped de acuerdo con la reivindicación 44 bajo condiciones apropiadas para expresar el anticuerpo o una porción de este.

46. El método de acuerdo con la reivindicación 45, CARACTERIZADO PORQUE también comprende aislar el anticuerpo o una porción de este.

47. Una composición CARACTERIZADA PORQUE comprende un anticuerpo monoclonal o una porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 y un vehículo o un transporte farmacéuticamente aceptable.

48. Un método para tratar un sujeto que lo necesita, CARACTERIZADO PORQUE comprende administrarle al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o de una composición de acuerdo con la reivindicación 47.

49. Un método para tratar una afección en un sujeto que lo necesita, CARACTERIZADO PORQUE comprende administrarle al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o de una composición de acuerdo con la reivindicación 47.

50. El método de acuerdo con la reivindicación 49, CARACTERIZADO PORQUE dicha afección es una afección asociada a CCR6.

51. El método de acuerdo con la reivindicación 49, CARACTERIZADO PORQUE dicha afección es una afección autoinmune o inflamatoria.

52. El método de acuerdo con la reivindicación 49, CARACTERIZADO PORQUE dicha afección es la artritis reumática, la psoriasis, la dermatitis atópica, la dermatitis de contacto, la enfermedad de Crohn, la enfermedad intestinal inflamatoria, la enfermedad de Graves, el vitíligo, el hipertiroidismo, la hepatitis crónica, una infección de papilomavirus humanos en el cuello uterino, una micosis fungoide, la osteoporosis o la enfermedad periodontal.

53. Un método para tratar un cáncer, CARACTERIZADO PORQUE comprende administrarle a un sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o de una composición de acuerdo con la reivindicación 47.

54. El método de acuerdo con la reivindicación 53, CARACTERIZADO PORQUE dicho cáncer es una afección maligna de las células B, un adenocarcinoma de mama, un glioblastoma, un carcinoma hepatocelular, un adenocarcinoma pancreático o un carcinoma papilar en la tiroides.

55. Un método para reducir la quimiotaxis mediada por CCL20 de las células CCR6+ en un sujeto que lo necesita, CARACTERIZADO PORQUE comprende administrarle al sujeto un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o una composición de acuerdo con la reivindicación 47.

56. Un método para reducir la quimiotaxis mediada por CCL20 en células

CCR6+ *in vitro*, CARACTERIZADO PORQUE comprende usar un anticuerpo o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o una composición de acuerdo con la reivindicación 47.

57. Un método para tratar una afección en un sujeto, CARACTERIZADO PORQUE comprende administrarle al sujeto un anticuerpo o la porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o una composición de acuerdo con la reivindicación 47, donde dicha afección se selecciona del grupo que consiste en

a) las articulaciones distales de las extremidades, tales como el codo o la rodilla;

b) el eritema;

c) la hinchazón;

d) los niveles incrementados de la proteína oligomérica de la matriz del cartílago (COMP) en el suero;

e) los niveles incrementados del ARNm del receptor del activador del factor nuclear inductor de los oesteoclastos κB (RANKL), del receptor del activador del factor nuclear κB (RANK), de la fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP) o de la catepsina K;

f) la dermatitis atópica; y

g) la dermatitis de contacto alérgica.

58. Uso de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o de una composición de acuerdo con la reivindicación 47, CARACTERIZADO PORQUE es en la manufactura de un medicamento.

59. Uso de un anticuerpo o una porción de unión al antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o de una composición de acuerdo con la reivindicación 47, CARACTERIZADO PORQUE es como medicamento.

ANTICUERPOS NEUTRALIZADORES ANTI-CCL20

RESUMEN

Nuevos anticuerpos humanizados, quiméricos y murinos que presentan especificidad de unión por el ligando de la quimioquina humana CC 20 (CCL20). Cadenas pesadas y cadenas livianas de dichos anticuerpos. Ácidos nucleicos aislados, vectores recombinantes y células huésped que comprenden una secuencia que codifica una cadena pesada y/o una cadena liviana de dichos anticuerpos. Método para preparar dichos anticuerpos. Los anticuerpos anti-CCL20 de la invención pueden usarse en aplicaciones terapéuticas, por ejemplo, para tratar los trastornos inflamatorios y autoinmunes y el cáncer.

657

PATENT COOPERATION TREATY PCT/US2011/061525

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

(PCT Rule 92*bis*.1 and Administrative Instructions, Section 422)

To:

GUNNISON, Jane T.
Ropes & Gray LLP
1211 Avenue of the Americas
New York, New York 10036
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing *(day/month/year)*
14 June 2013 (14.06.2013)

Applicant's or agent's file reference
1068060008W1

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/US2011/061525

International filing date *(day/month/year)*
18 November 2011 (18.11.2011)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address
IMAI, Toshio
C-2406, Portopia Plaza, 6-14
Minatojimanakamachi, Chuo-ku
Kobe, Hyogo 650-0046
Japan

State of Nationality: JP
State of Residence: JP
Telephone No.:
Facsimile No.:
E-mail address:

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☐ the name ☒ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address
IMAI, Toshio
84, Teranouchidori-omiyanishiiru-oinokumacho
Kamigyo-ku, Kvoto-shi, Kyoto, 602-8405
Japan

State of Nationality: JP
State of Residence: JP
Telephone No.:
Facsimile No.:
E-mail address:
☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
☐ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search
☐ the International Preliminary Examining Authority
☐ the designated Offices concerned
☒ the elected Offices concerned
☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. +41 22 338 70 80

Authorized officer
Safi Horiya
e-mail pt03.pct@wipo.int
Telephone No. +41 22 338 74 03

6584

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/US2011/061525

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

(PCT Rule 92*bis*.1 and Administrative Instructions, Section 422)

To:

GUNNISON, Jane T.
Ropes & Gray LLP
1211 Avenue of the Americas
New York, New York 10036
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing *(day/month/year)*
22 May 2013 (22.05.2013)

Applicant's or agent's file reference
1068060008W1

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/US2011/061525

International filing date *(day/month/year)*
18 November 2011 (18.11.2011)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

KLINE, Brad
29 Lenape Drive
Morgantown, Pennsylvania 19543
United States of America

State of Nationality	State of Residence
US	US

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☒ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address

KLINE, James Bradford
29 Lenape Drive
Morgantown, Pennsylvania 19543
United States of America

State of Nationality	State of Residence
US	US

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address
☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
☐ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search
☐ the International Preliminary Examining Authority
☐ the designated Offices concerned
☒ the elected Offices concerned
☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. +41 22 338 70 80

Authorized officer
Safi Horiya
e-mail pt03.pct@wipo.int
Telephone No. +41 22 338 74 03

659

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/US2011/061525

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

(PCT Rule 92*bis*.1 and Administrative Instructions, Section 422)

To:

GUNNISON, Jane T.
Ropes & Gray LLP
1211 Avenue of the Americas
New York, New York 10036
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing *(day/month/year)*
14 June 2013 (14.06.2013)

Applicant's or agent's file reference
1068060008W1

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/US2011/061525

International filing date *(day/month/year)*
18 November 2011 (18.11.2011)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address
MURMOTO, Kenzo
4-2-19 Ninomiya
Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0051
Japan

State of Nationality: JP
State of Residence: JP
Telephone No.:
Facsimile No.:
E-mail address:

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☒ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address
MURAMOTO, Kenzo
4-2-19 Ninomiya
Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0051
Japan

State of Nationality: JP
State of Residence: JP
Telephone No.:
Facsimile No.:
E-mail address:
☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
☐ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search
☐ the International Preliminary Examining Authority
☐ the designated Offices concerned
☒ the elected Offices concerned
☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. +41 22 338 70 80

Authorized officer
Safi Horiya
e-mail pt03.pct@wipo.int
Telephone No. +41 22 338 74 03

669

PATENT COOPERATION TREATY PCT/US2011/061525

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

(PCT Rule 92*bis*.1 and Administrative Instructions, Section 422)

To:

GUNNISON, Jane T.
Ropes & Gray LLP
1211 Avenue of the Americas
New York, New York 10036
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing *(day/month/year)*
14 June 2013 (14.06.2013)

Applicant's or agent's file reference
1068060008W1

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/US2011/061525

International filing date *(day/month/year)*
18 November 2011 (18.11.2011)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address
HORIZOE, Tastuo
1-7-4-604 Amakubo
Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0005
Japan

State of Nationality: JP
State of Residence: JP
Telephone No.:
Facsimile No.:
E-mail address:

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☒ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address
HORIZOE, Tatsuo
1-7-4-604 Amakubo
Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0005
Japan

State of Nationality: JP
State of Residence: JP
Telephone No.:
Facsimile No.:
E-mail address:
☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
☐ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search
☐ the International Preliminary Examining Authority
☐ the designated Offices concerned
☒ the elected Offices concerned
☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. +41 22 338 70 80

Authorized officer
Safi Horiya
e-mail pt03.pct@wipo.int
Telephone No. +41 22 338 74 03

PATENT COOPERATION TREATY PCT/US2011/061525

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

(PCT Rule 92*bis*.1 and Administrative Instructions, Section 422)

To:

GUNNISON, Jane T.
Ropes & Gray LLP
1211 Avenue of the Americas
New York, New York 10036
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing *(day/month/year)*
14 June 2013 (14.06.2013)

Applicant's or agent's file reference
1068060008W1

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/US2011/061525

International filing date *(day/month/year)*
18 November 2011 (18.11.2011)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address
HORIZOE, Tatsuo
1-7-4-604 Amakubo
Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0005
Japan

State of Nationality: JP
State of Residence: JP
Telephone No.:
Facsimile No.:
E-mail address:

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☐ the name ☒ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address
HORIZOE, Tatsuo
5-18-4, Matsugaoka, Moriya-shi
Ibaraki, 302-0127
Japan

State of Nationality: JP
State of Residence: JP
Telephone No.:
Facsimile No.:
E-mail address:
☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
☐ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search
☐ the International Preliminary Examining Authority
☐ the designated Offices concerned
☒ the elected Offices concerned
☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. +41 22 338 70 80

Authorized officer
Safi Horiya
e-mail pt03.pct@wipo.int
Telephone No. +41 22 338 74 03

62

662

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

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 13 - 0059707

Bogotá D.C., Junio 18 de 2013 - 12:18:22

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	189814461	18/06/2013	12.451.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCION	500.000.00	500.000.00
				$500.000.00

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

Responsable: _____
****

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-145744- -00000-0000

Fecha: 2013-06-19 11:31:17 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 663

COD: 20279- 841-001-7

663

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN
SOLICITUD FASE NACIONAL PCT

(21) N° de solicitud:	(51) Int Cl: **C07K 016/000**
22) Fecha de solicitud:	(71)Solicitante(s) **TOSHIO IMAI; JAMES BRADFORD KLINE; TETSU KAWANO; LUIGI GRASSO; YOSHIMASA SAKAMOTO; JARED SPIDEL; MIYUKI NISHIMURA; KENZO MURAMOTO;TATSUO HORIZOE**
(30) Prioridad (31) ***Prioridad*** (32) ***Fecha*** (33) ***País*** **61/415,614** **2010/11/19** **US**	(72) Inventor(es) **TOSHIO IMAI Y OTROS**
	(74) Apoderado: **LUZ CLEMENCIA DE PAEZ**
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 2013/06/19 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 2011/11/18 No. de solicitud PCT/US2011/061525	(87) Publicación internacional Fecha: 2012/05/24 N° publicación: ***WO 2012/068540 A3***
(54) Titulo: **ANTICUERPOS NEUTRALIZADORES ANTI-CCL20**	

Resumen:

Nuevos anticuerpos humanizados, quiméricos y murinos que presentan especificidad de unión por el ligando de la quimioquina humana CC 20 (CCL20). Cadenas pesadas y cadenas livianas de dichos anticuerpos. Ácidos nucleicos aislados, vectores recombinantes y células huésped que comprenden una secuencia que codifica una cadena pesada y/o una cadena liviana de dichos anticuerpos. Método para preparar dichos anticuerpos. Los anticuerpos anti-CCL20 de la invención pueden usarse en aplicaciones terapéuticas, por ejemplo, para tratar los trastornos inflamatorios y autoinmunes y el cáncer.

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-145744- -00000-0000

Fecha: 2013-06-19 11:31:17 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 663

S

0

PATENTE DE INVENCIÓN ☐ MODEL

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCIÓN PCT ☐ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☐ Indicación que se solicita una PCT
- ☐ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

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

Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> IMAI, TOSHIO
KLINE, BRAD
KAWANO, TETSU
GRASSO, LUIGI
SAKAMOTO, YOSHIMASA
SPIDEL, JARED
NISHIMURA, MIYUKI
MURMOTO, KENZO
HORIZOE, TASTUO

<120> ANTICUERPOS ANTI-CCL20 NEUTRALIZANTES

<130> 106806-0008-WO1

<140> PCT/US2011/061525
<141> 2011-11-18

<150> 61/415,614
<151> 2010-11-19

<160> 117

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 469
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 2
<211> 469
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 2
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

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

Thr Asn Tyr Trp Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

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

Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 3
<211> 469
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 3
Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

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

Thr Asn Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 4
<211> 469
<212> PRT
```

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 4

```
Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1               5                  10                  15

Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
            20                  25                  30

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

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

Glu Trp Met Gly Leu Ile Asp Pro Ser Asp Lys Tyr Thr Asn Tyr Asn
65                  70                  75                  80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 5
<211> 469
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 5
Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

```
Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
            20                  25                  30

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

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

Glu Trp Met Gly Leu Ile Asp Pro Ser Asp Lys Tyr Thr Asn Tyr Asn
65                  70                  75                  80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser
                85                  90                  95

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

Tyr Tyr Cys Thr Arg Gly Asn Tyr Gly Val Asp Tyr Gly Met Asp Tyr
        115                 120                 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 6
<211> 469
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 6
Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

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

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

```
Glu Trp Met Gly Leu Ile Asp Pro Ser Asp Lys Tyr Thr Asn Tyr Asn
65                  70                  75                  80

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

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

Tyr Tyr Cys Thr Arg Gly Asn Tyr Gly Val Asp Tyr Gly Met Asp Tyr
        115                 120                 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
465

<210> 7
<211> 233
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 7
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
20 25 30

Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 8
<211> 236
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 8
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

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

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

Glu Asn Ile Tyr Gly Ala Leu Asn Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Gly Lys
50 55 60

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

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

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

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

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

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

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

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

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 9
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 9
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 10
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 10
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Thr Arg Gly Asn Tyr Gly Val Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 11
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 11
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Thr Arg Gly Asn Tyr Gly Val Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 12
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 12
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 13
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 13
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 14
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 14
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 15
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 15
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 Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Arg Gln Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

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

<210> 16
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 16
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 Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 17
<211> 1410
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 17
atgggctggt cctgcatcat tctgttcctg gtggccactg ctaccggagt gcacagccag 60

gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaaacccg gtgcaagtgt gaaggtgtca 120

tgtaaagcat ccggctatac attcactaac tactggatgc attgggtgag gcaggctcca 180

ggacagggac tggaatggat gggcgtgatc gacccttcag attcctacac cacatatgcc 240

cagaagtttc agggcagggt gaccatgaca gtggacacta gcacctctac agtgtacatg 300

gagctgtcca gcctgagaag tgaagataca gcagtgtact attgcgcccg cggcaattac 360

ggagtggact atgccatgga ttactggggg cagggtactc tggtgaccgt gtctagtgct 420

tctaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 720

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtctcc cgggaaatga 1410

<210> 18
<211> 1410
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 18
atgggctggt cctgcatcat tctgttcctg gtggcaactg ccaccggagt gcacagccag 60

gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaaacccg gtgcaagtgt gaaagtgtca 120

tgcaaggcat ccggctatac attcactaac tactggatgc attgggtgaa gcaggcacca 180

ggacagggac tggaatggat cggcgtgatc gacccttcag attcctacac cacatataat 240

cagaagttta aaggcaaggc taccatgaca agggacacta gcacctctac agtgtacatg 300

gagctgtcca gcctgaggtc cgaagataca gccgtgtact attgcactcg gggcaactac 360

ggagtggact atgctatgga ttactggggg cagggtacta gtgtgaccgt gtctagtgca 420

tctaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 720

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtctcc cgggaaatga 1410

<210> 19
<211> 1410
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 19
atggactgga catggagaat cctgttcctg gtggccgctg caaccggagc acacagccag 60

gtgcagctgg tgcagtctgg agcagaggtg aagaaacccg gtgctagtgt gaaagtgtca 120

tgcaaggcct ccgggtatac tttcaccaac tactggatgc attgggtgag gcaggctcca 180

ggacagggac tggaatggat gggcgtgatt gacccttcag attcctacac cacatataat 240

cagaagttta aaggaaaggc aacactgact gtggacacca gcacatctac tgcctacatg 300

gagctgtcca gcctgaggtc cgaagatact gccgtgtact attgtacccg gggcaactac 360

ggagtggact atgcaatgga ttactggggg cagggtaccc tggtgacagt gtctagtgct 420

agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 720

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 1410

<210> 20
<211> 1410
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 20
atggactgga cctggcgaat cctgttcctg gtggccgctg caacaggagc acactcacag 60

gtgcagctgg tgcagtccgg ggcagaggtg aagaaacccg gtgccagcgt gaaggtgtct 120

tgcaaagcta gtggctatac cttcacaagc tactggatgc attgggtgcg gcaggcacca 180

ggacagggac tggaatggat gggcctgatt gacccttctg ataagtacac taactacaac 240

cagaagttta aaggaagggt gactatgacc cgggacacat caacttccac cgtgtacatg 300

gagctgtcca gcctgagatc cgaagatacc gccgtgtact attgtgctcg cggcaactac 360

ggagtggact atggcatgga ttactggggg cagggtacac tggtgaccgt gtccagtgct 420

agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 720

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 1410

<210> 21
<211> 1410
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 21
atggactgga cttggaggat cctgttcctg gtggccgctg caaccggagc tcactcacag 60

gtgcagctgg tgcagtccgg agcagaggtg aagaaacccg gtgcctccgt gaaggtgtct 120

tgcaaagcaa gtggctatac cttcacaagc tactggatgc attgggtgag acaggcacca 180

ggacagggac tggaatggat gggcctgatt gacccttctg ataagtacac caactacaac 240

cagaagttta aaggacgcgt gactctgacc gtggacacat caacttccac cgtgtacatg 300

gagctgtcca gcctgaggtc cgaagatacc gcagtgtact attgtacacg gggcaactac 360

ggagtggact atggcatgga ttactggggg cagggtacac tggtgaccgt gtccagtgct 420

agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 720

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 1410

<210> 22
<211> 1410
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 22
atggactgga cttggagaat cctgttcctg gtggccgctg caaccggagc tcactcacag 60

gtgcagctgg tgcagtccgg agcagaggtg aagaaacccg gtgcctccgt gaaagtgtct 120

tgcaaggcta gtggctatac cttcacaagc tactggatgc attgggtgag gcaggcacca 180

ggacagggac tggaatggat gggcctgatt gacccttctg ataagtacac caactacaac 240

cagaagttta aaggaaaggc aactctgacc gtggacacat caacttccac cgcctacatg 300

gagctgtcca gcctgaggtc cgaagatacc gccgtgtact attgtacacg gggcaactac 360

ggagtggact atggcatgga ttactggggg cagggtacac tggtgaccgt gtccagtgct 420

agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagcccaaa 720
tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaatga 1410

<210> 23
<211> 702
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 23
atgggctggt cctgcatcat tctgttcctg gtggcaaccg ccacaggagt gcacagcgac 60

atccagatga cccagtctcc atccagcctg agtgcctcag tgggcgatag ggtgactatc 120

acctgtcggg ccagcgagaa catctacggc gctctgaatt ggtatcagca gaagccagga 180

aaagctccca agctgctgat ctacggggct acaaacctgg cagacggtgt gcccagtcga 240

ttctccggta gcggctctgg acgacagtat tcactgacta tctctagtct gcagcctgaa 300

gatttcgcca cttactattg ccagaatgtg ctgattactc catatacctt tggcggaggg 360

acaaaactgg agatcaagag aactgtggcc gctcccagtg tgttcatttt tccccccttca 420

gacgaacagc tgaaatcagg gaccgcttcc gtggtgtgtc tgctgaacaa tttctaccct 480

cgcgaggcaa aagtgcagtg gaaggtggat aacgccctgc agagtggcaa ttcacaggag 540

tccgtgaccg aacaggacag caaagattct acatatagtc tgtcatccac cctgacactg 600

agcaaggctg attacgagaa gcacaaagtg tatgcatgcg aagtgactca tcaggggctg 660
agctctcccg tgaccaagtc ttttaaccgg ggtgaatgtt ga 702

<210> 24
<211> 711
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 24
atggacatga gggtgcctgc tcagctgctg ggactgctgc tgctgtggct gaggggagca 60

cgatgcgaca tccagatgac tcagagccca tccagcctgt cagcctccgt gggcgacagg 120

gtgaccatca catgtggagc atccgagaac atctacgggg ccctgaattg gtatcagagg 180

aagcccggca aagctcctaa gctgctgatc tacggtgcca caaacctggc tgatggcgtg 240

ccctccagat tcagcggctc tggaagtggg cgcgactata ctctgaccat ttctagtctg 300

cagccagagg atttcgccac ctactattgc cagaatgtgc tgatcacacc ctacactttt 360

ggtcagggca caaaactgga aattaagcgt acggtggctg caccatctgt cttcatcttc 420

ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480

ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac 540

tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600

ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 660

cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgttg a 711

<210> 25
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 25
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaaac ccggtgcaag tgtgaaggtg 60

tcatgtaaag catccggcta tacattcact aactactgga tgcattgggt gaggcaggct 120

ccaggacagg gactggaatg gatgggcgtg atcgaccctt cagattccta caccacatat 180

gcccagaagt ttcagggcag ggtgaccatg acagtggaca ctagcacctc tacagtgtac 240

atggagctgt ccagcctgag aagtgaagat acagcagtgt actattgcgc ccgcggcaat 300
tacggagtgg actatgccat ggattactgg gggcagggta ctctggtgac cgtgtctagt 360

<210> 26
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 26
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaaac ccggtgcaag tgtgaaagtg 60

tcatgcaagg catccggcta tacattcact aactactgga tgcattgggt gaagcaggca 120

ccaggacagg gactggaatg gatcggcgtg atcgaccctt cagattccta caccacatat 180

aatcagaagt ttaaaggcaa ggctaccatg acaagggaca ctagcacctc tacagtgtac 240

atggagctgt ccagcctgag gtccgaagat acagccgtgt actattgcac tcggggcaac 300

tacggagtgg actatgctat ggattactgg gggcagggta ctagtgtgac cgtgtctagt 360

<210> 27
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 27
caggtgcagc tggtgcagtc tggagcagag gtgaagaaac ccggtgctag tgtgaaagtg 60

tcatgcaagg cctccgggta tactttcacc aactactgga tgcattgggt gaggcaggct 120

ccaggacagg gactggaatg gatgggcgtg attgaccctt cagattccta caccacatat 180

aatcagaagt ttaaaggaaa ggcaacactg actgtggaca ccagcacatc tactgcctac 240

atggagctgt ccagcctgag gtccgaagat actgccgtgt actattgtac ccggggcaac 300

tacggagtgg actatgcaat ggattactgg gggcagggta ccctggtgac agtgtctagt 360

<210> 28
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 28
caggtgcagc tggtgcagtc cggggcagag gtgaagaaac ccggtgccag cgtgaaggtg 60

tcttgcaaag ctagtggcta taccttcaca agctactgga tgcattgggt gcggcaggca 120

ccaggacagg gactggaatg gatgggcctg attgaccctt ctgataagta cactaactac 180

aaccagaagt ttaaaggaag ggtgactatg acccgggaca catcaacttc caccgtgtac 240

atggagctgt ccagcctgag atccgaagat accgccgtgt actattgtgc tcgcggcaac 300

tacggagtgg actatggcat ggattactgg gggcagggta cactggtgac cgtgtccagt 360

<210> 29
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 29
caggtgcagc tggtgcagtc cggagcagag gtgaagaaac ccggtgcctc cgtgaaggtg 60

tcttgcaaag caagtggcta taccttcaca agctactgga tgcattgggt gagacaggca 120

ccaggacagg gactggaatg gatgggcctg attgaccctt ctgataagta caccaactac 180

aaccagaagt ttaaaggacg cgtgactctg accgtggaca catcaacttc caccgtgtac 240

atggagctgt ccagcctgag gtccgaagat accgcagtgt actattgtac acggggcaac 300

tacggagtgg actatggcat ggattactgg gggcagggta cactggtgac cgtgtccagt 360

<210> 30
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 30
caggtgcagc tggtgcagtc cggagcagag gtgaagaaac ccggtgcctc cgtgaaagtg 60

tcttgcaagg ctagtggcta taccttcaca agctactgga tgcattgggt gaggcaggca 120

ccaggacagg gactggaatg gatgggcctg attgaccctt ctgataagta caccaactac 180

aaccagaagt ttaaaggaaa ggcaactctg accgtggaca catcaacttc caccgcctac 240

atggagctgt ccagcctgag gtccgaagat accgccgtgt actattgtac acggggcaac 300

tacggagtgg actatggcat ggattactgg gggcagggta cactggtgac cgtgtccagt 360

<210> 31
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 31
gacatccaga tgacccagtc tccatccagc ctgagtgcct cagtgggcga tagggtgact 60

atcacctgtc gggccagcga gaacatctac ggcgctctga attggtatca gcagaagcca 120

ggaaaagctc ccaagctgct gatctacggg gctacaaacc tggcagacgg tgtgcccagt 180

cgattctccg gtagcggctc tggacgacag tattcactga ctatctctag tctgcagcct 240

gaagatttcg ccacttacta ttgccagaat gtgctgatta ctccatatac ctttggcgga 300

gggacaaaac tggagatcaa g 321

<210> 32
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 32
gacatccaga tgactcagag cccatccagc ctgtcagcct ccgtgggcga cagggtgacc 60

atcacatgtg gagcatccga gaacatctac ggggccctga attggtatca gaggaagccc 120

ggcaaagctc ctaagctgct gatctacggt gccacaaacc tggctgatgg cgtgccctcc 180

agattcagcg gctctggaag tgggcgcgac tatactctga ccatttctag tctgcagcca 240

gaggatttcg ccacctacta ttgccagaat gtgctgatca caccctacac ttttggtcag 300

ggcacaaaac tggaaattaa g 321

<210> 33
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 33
Met Arg Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val Asn Ser

<210> 34
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 34
Met Gly Val Pro Thr Gln Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Val Val Val
1 5 10 15

Val Arg Cys

<210> 35
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 35
Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Ile Ala Gly
1 5 10 15

Val Gln Ser

<210> 36
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 36
Met Gly Val Pro Thr Gln Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Val Val Val
1 5 10 15

Val Arg Cys

<210> 37
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 37
Met Arg Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val Asn Ser

<210> 38
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 38
Met Gly Val Pro Thr Gln Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Val Val Val
1 5 10 15

Val Arg Cys

<210> 39
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 39
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Asn Tyr Gly Val Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 40
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

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

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Met Ser Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Ile Thr Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 41
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 41
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

```
            20                  25                  30
Glu Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

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

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

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

Thr Lys Cys Tyr Tyr Gly Ser Ala Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 42
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 42

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

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
            20                  25                  30

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

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Met Ser Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

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

Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Ser Thr Pro Trp
                85                  90                  95

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

<210> 43
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 43
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 44
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 44
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Met Ser Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Ser Thr Pro Tyr

85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 45
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleotido sintético

<400> 45
atgagatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt caactcc 57

<210> 46
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleotido sintético

<400> 46
atgggtgtac ccactcagct cctgttgctg tggcttacag tcgtagttgt cagatgt 57

<210> 47
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleotido sintético

<400> 47
atggaatgga gctgggtctt tctcttcctc ctgtcagtaa ttgcaggtgt ccaatcc 57

<210> 48
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleotido sintético

<400> 48
atgggtgtac ccactcagct cctgttgctg tggcttacag tcgtagttgt cagatgt 57

<210> 49
<211> 57

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleotido sintético

<400> 49
atgagatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt caactcc 57

<210> 50
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Oligonucleotido sintético

<400> 50
atgggtgtac ccactcagct cctgttgctg tggcttacag tcgtagttgt cagatgt 57

<210> 51
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 51
caggtccaac tgcagcagcc tggggctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc aactactgga tgcactgggt gaagcagagg 120

cctggacaag gccttgagtg gatcggagtg attgatcctt ctgatagtta tactacctac 180

aatcaaaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca catcctccag cacagcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtac aagaggtaac 300

tacggagtag actatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctcg 360

<210> 52
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 52
gacatccaga tgactcagtc tccagcttca ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60

atcacatgtg gagcaagtga gaatatttac ggtgctttaa attggtatca gcggaaacag 120
ggaaaatctc ctcagctcct gatctatggt gcaaccaact tggcagatgg catgtcatcg 180

aggttcagtg gcagtggatc tggtagacag tattctctca agatcagtag cctgcatcct 240

gacgatgttg caacgtatta ctgtcaaaat gtgttaatta ctccgtacac gttcggaggg 300

gggaccaagc tggaaataaa a 321

<210> 53
<211> 363
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 53
caggttcaac tgcagcagtc tggggctgag ctggtgaggc ctggggcttc agtgacgctg 60

tcctgcaagg cttcgggcta cacatttact gactatgaaa tgcactgggt gaagcagaca 120

cctgtgcatg gcctggaatg gattggagct attgatcctg aaactactag tactgcctac 180

aatcagaagt tcaagggcaa ggccacactg actgcagaca aatcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgccgtct attactgtac caaatgttac 300

tacggtagcg cggactatgc tatggactac tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 54
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 54
gacatccaga tgactcagtc tccagcttca ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60

atcacatgtg gagcaagtga gaatatttac ggtgctttaa attggtatca gcggaaacag 120

ggaaaatctc ctcagctcct gatctatggt gcaaccaact tggcagatgg catgtcatcg 180

aggttcagtg gcagtggatc tggtagacag tattctctca agatcagtag cctgcatcct 240

gacgatgttg caacgtatta ctgtcaaaat gtgttaagta ctccgtggac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa a 321

<210> 55
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 55
caggtccaac tgcagcagcc tggggctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagagg 120

cctggacaag gccttgagtg gatcggactg attgatcctt ctgataagta tactaactac 180

aatcaaaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca catcctccag cacagcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtac aagaggtaac 300

tacggagtag actatggtat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca 360

<210> 56
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 56
gacatccaga tgactcagtc tccagcttca ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60

atcacatgtg gagcaagtga gaatatttac ggtgctttaa attggtatca gcggaaacag 120

ggaaaatctc ctcagctcct gatctatggt gcaaccaact tggcagatgg catgtcatcg 180

aggttcagtg gcagtggatc tggtagacag tattctctca agatcagtag cctgcatcct 240

gacgatgttg caacgtatta ctgtcaaaat gtgttaagta ctccgtacac gttcggaggg 300

gggaccaagc tggaaataaa a 321

<210> 57
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 57
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

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

Ala Arg

<210> 58
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 58
Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10 15

<210> 59
<211> 96
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 59
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 Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

<210> 60
<211> 5
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Synthetic peptide

<400> 60
Asn Tyr Trp Met His
1 5

<210> 61
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 61
Ser Tyr Trp Met His
1 5

<210> 62
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 62
Ser Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 63
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 63
Val Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 64
<211> 17
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 64
Val Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 65
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 65
Leu Ile Asp Pro Ser Asp Lys Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 66
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

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

Gly

<210> 67
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 67
Gly Asn Tyr Gly Val Asp Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 68
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 68
Gly Asn Tyr Gly Val Asp Tyr Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 69
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 69
Glu Gly Asp Gly Tyr Ile Gln Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 70
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 70
Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala Leu Asn
1 5 10

<210> 71
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 71
Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala Leu Asn
1 5 10

<210> 72
<211> 11

<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 72
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 73
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 73
Gly Ala Thr Asn Leu Ala Asp
1 5

<210> 74
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 74
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 75
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 75
Gln Asn Val Leu Ile Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 76
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 77
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 77
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
1 5

<210> 78
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 78
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
1 5

<210> 79
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 79
Val Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Thr
1 5 10

<210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 80
Leu Ile Asp Pro Ser Asp Lys Tyr Thr Asn
1 5 10

<210> 81
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 81
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser
1 5 10

<210> 82
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 82
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83
<211> 107

<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 83
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 Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 84
<211> 70
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 84
Ala Ser Asn Phe Asp Cys Cys Leu Gly Tyr Thr Asp Arg Ile Leu His
1 5 10 15

Pro Lys Phe Ile Val Gly Phe Thr Arg Gln Leu Ala Asn Glu Gly Cys
20 25 30

Asp Ile Asn Ala Ile Ile Phe His Thr Lys Lys Lys Leu Ser Val Cys
35 40 45

Ala Asn Pro Lys Gln Thr Trp Val Lys Tyr Ile Val Arg Leu Leu Ser
50 55 60

Lys Lys Val Lys Asp Met
65 70

<210> 85
<211> 96
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 85
Met Cys Cys Thr Lys Ser Leu Leu Leu Ala Ala Leu Met Ser Val Leu
1 5 10 15

Leu Leu His Leu Cys Gly Glu Ser Glu Ala Ala Ser Asn Phe Asp Cys
20 25 30

Cys Leu Gly Tyr Thr Asp Arg Ile Leu His Pro Lys Phe Ile Val Gly
35 40 45

Phe Thr Arg Gln Leu Ala Asn Glu Gly Cys Asp Ile Asn Ala Ile Ile
50 55 60

Phe His Thr Lys Lys Lys Leu Ser Val Cys Ala Asn Pro Lys Gln Thr
65 70 75 80

Trp Val Lys Tyr Ile Val Arg Leu Leu Ser Lys Lys Val Lys Asn Met
85 90 95

<210> 86
<211> 96
<212> PRT
<213> Macaca mulatta

<400> 86
Met Cys Cys Thr Lys Ser Leu Leu Leu Ala Ala Leu Met Ser Val Leu
1 5 10 15

Leu Leu Tyr Leu Cys Ser Glu Ser Glu Ala Ala Ser Asn Phe Asp Cys
20 25 30

Cys Leu Arg Tyr Thr Asp Arg Ile Leu His Pro Lys Phe Ile Val Gly
35 40 45

Phe Thr Gln Gln Leu Ala Asn Glu Thr Cys Asp Ile Asn Ala Val Val
50 55 60

Phe His Thr Lys Lys Gly Leu Ser Val Cys Ala Asn Pro Lys Gln Thr
65 70 75 80

Trp Val Lys Leu Ile Val Arg Arg Leu Ser Lys Lys Ile Asn Lys Met
85 90 95

<210> 87
<211> 96
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 87
Met Cys Cys Ser Lys Ser Leu Leu Leu Ala Ala Leu Met Ser Val Leu
1 5 10 15

Leu Leu Tyr Leu Cys Ser Glu Ser Glu Ala Ala Ser Asn Phe Asp Cys
20 25 30

Cys Leu Arg Tyr Thr Asp Arg Ile Leu His Pro Lys Phe Ile Val Gly
35 40 45

Phe Thr Gln Gln Leu Ala Asn Glu Thr Cys Asp Ile Asn Ala Val Ile
50 55 60

Phe His Thr Lys Lys Gly Leu Ser Val Cys Ala Asn Pro Lys Gln Thr
65 70 75 80

Trp Val Lys Leu Ile Val Arg Arg Leu Ser Lys Lys Ile Asn Lys Met
85 90 95

<210> 88
<211> 95
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 88
Cys Gly Gly Lys Arg Leu Leu Phe Leu Ala Leu Ala Trp Val Leu Leu
1 5 10 15

Ala His Leu Cys Ser Gln Ala Glu Ala Ala Ser Asn Tyr Asp Cys Cys
20 25 30

Leu Ser Tyr Ile Gln Thr Pro Leu Pro Ser Arg Ala Ile Val Gly Phe
35 40 45

Thr Arg Gln Met Ala Asp Glu Ala Cys Asp Ile Asn Ala Ile Ile Phe
50 55 60

His Thr Lys Lys Arg Lys Ser Val Cys Ala Asp Pro Lys Gln Asn Trp
65 70 75 80

Val Lys Arg Ala Val Asn Leu Leu Ser Leu Arg Val Lys Lys Met
85 90 95

<210> 89
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 89
catttgcaca cctcaccatc 20

<210> 90

<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 90
tccgttgctt aacgtcatgt 20

<210> 91
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 91
cggcgtttac tacaggaagg 20

<210> 92
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 92
ttcttgctga ctggaggttg 20

<210> 93
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 93
gctggaaacc atgatcacct 20

<210> 94
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 94
ggtagtaagg gctggggaag 20

<210> 95
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 95
cagtgttggt ggtgggctat 20

<210> 96
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 96
ccgagccaag agagcatatc 20

<210> 97
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 97
caggccagac tttgttggat 20

<210> 98
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Cebador sintético

<400> 98
ttgcgctcat cttaggcttt 20

<210> 99
<211> 70

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 99
Ala Ser Asn Phe Asp Cys Cys Leu Gly Tyr Thr Asp Arg Ile Leu His
1 5 10 15

Pro Lys Phe Ile Val Gly Phe Thr Arg Gln Leu Ala Asn Glu Gly Cys
20 25 30

Asp Ile Asn Ala Ile Ile Phe His Thr Lys Lys Lys Leu Ser Val Cys
35 40 45

Ala Asn Pro Lys Gln Thr Trp Val Lys Tyr Ile Val Arg Leu Leu Ser
50 55 60

Lys Lys Val Lys Asn Met
65 70

<210> 100
<211> 210
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 100
gcaagcaact ttgactgctg tcttggatac acagaccgta ttcttcatcc taaatttatt 60

gtgggcttca cacggcagct ggccaatgaa ggctgtgaca tcaatgctat catctttcac 120

acaaagaaaa agttgtctgt gtgcgcaaat ccaaaacaga cttgggtgaa atatattgtg 180

cgtctcctca gtaaaaaagt caagaacatg 210

<210> 101
<211> 288
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 101
atgtgctgta ccaagagttt gctcctggct gctttgatgt cagtgctgct actccacctc 60

tgcggcgaat cagaagcagc aagcaacttt gactgctgtc ttggatacac agaccgtatt 120

cttcatccta aatttattgt gggcttcaca cggcagctgg ccaatgaagg ctgtgacatc 180

aatgctatca tctttcacac aaagaaaaag ttgtctgtgt gcgcaaatcc aaaacagact 240

tgggtgaaat atattgtgcg tctcctcagt aaaaaagtca agaacatg 288

<210> 102
<211> 97
<212> PRT

<213> Mus musculus
<400> 102
Met Ala Cys Gly Gly Lys Arg Leu Leu Phe Leu Ala Leu Ala Trp Val
1 5 10 15

Leu Leu Ala His Leu Cys Ser Gln Ala Glu Ala Ala Ser Asn Tyr Asp
20 25 30

Cys Cys Leu Ser Tyr Ile Gln Thr Pro Leu Pro Ser Arg Ala Ile Val
35 40 45

Gly Phe Thr Arg Gln Met Ala Asp Glu Ala Cys Asp Ile Asn Ala Ile
50 55 60

Ile Phe His Thr Lys Lys Arg Lys Ser Val Cys Ala Asp Pro Lys Gln
65 70 75 80

Asn Trp Val Lys Arg Ala Val Asn Leu Leu Ser Leu Arg Val Lys Lys
85 90 95

Met

<210> 103
<211> 291
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 103
atggcctgcg gtggcaagcg tctgctcttc cttgctttgg catgggtact gctggctcac 60

ctctgcagcc aggcagaagc agcaagcaac tacgactgtt gcctctcgta catacagacg 120

cctcttcctt ccagagctat tgtgggtttc acaagacaga tggccgatga agcttgtgac 180

attaatgcta tcatctttca cacgaagaaa agaaaatctg tgtgcgctga tccaaagcag 240

aactgggtga aaagggctgt gaacctcctc agcctaagag tcaagaagat g 291

<210> 104
<211> 374
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 104
Met Ser Gly Glu Ser Met Asn Phe Ser Asp Val Phe Asp Ser Ser Glu
1 5 10 15

Asp Tyr Phe Val Ser Val Asn Thr Ser Tyr Tyr Ser Val Asp Ser Glu
20 25 30

Met Leu Leu Cys Ser Leu Gln Glu Val Arg Gln Phe Ser Arg Leu Phe
35 40 45

```
Val Pro Ile Ala Tyr Ser Leu Ile Cys Val Phe Gly Leu Leu Gly Asn
    50                  55                  60

Ile Leu Val Val Ile Thr Phe Ala Phe Tyr Lys Lys Ala Arg Ser Met
65                  70                  75                  80

Thr Asp Val Tyr Leu Leu Asn Met Ala Ile Ala Asp Ile Leu Phe Val
                85                  90                  95

Leu Thr Leu Pro Phe Trp Ala Val Ser His Ala Thr Gly Ala Trp Val
            100                 105                 110

Phe Ser Asn Ala Thr Cys Lys Leu Leu Lys Gly Ile Tyr Ala Ile Asn
        115                 120                 125

Phe Asn Cys Gly Met Leu Leu Leu Thr Cys Ile Ser Met Asp Arg Tyr
    130                 135                 140

Ile Ala Ile Val Gln Ala Thr Lys Ser Phe Arg Leu Arg Ser Arg Thr
145                 150                 155                 160

Leu Pro Arg Ser Lys Ile Ile Cys Leu Val Val Trp Gly Leu Ser Val
                165                 170                 175

Ile Ile Ser Ser Ser Thr Phe Val Phe Asn Gln Lys Tyr Asn Thr Gln
            180                 185                 190

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

Arg Trp Lys Leu Leu Met Leu Gly Leu Glu Leu Leu Phe Gly Phe Phe
    210                 215                 220

Ile Pro Leu Met Phe Met Ile Phe Cys Tyr Thr Phe Ile Val Lys Thr
225                 230                 235                 240

Leu Val Gln Ala Gln Asn Ser Lys Arg His Lys Ala Ile Arg Val Ile
                245                 250                 255

Ile Ala Val Val Leu Val Phe Leu Ala Cys Gln Ile Pro His Asn Met
            260                 265                 270

Val Leu Leu Val Thr Ala Ala Asn Leu Gly Lys Met Asn Arg Ser Cys
        275                 280                 285

Gln Ser Glu Lys Leu Ile Gly Tyr Thr Lys Thr Val Thr Glu Val Leu
    290                 295                 300

Ala Phe Leu His Cys Cys Leu Asn Pro Val Leu Tyr Ala Phe Ile Gly
305                 310                 315                 320

Gln Lys Phe Arg Asn Tyr Phe Leu Lys Ile Leu Lys Asp Leu Trp Cys
                325                 330                 335
```

Val Arg Arg Lys Tyr Lys Ser Ser Gly Phe Ser Cys Ala Gly Arg Tyr
340 345 350

Ser Glu Asn Ile Ser Arg Gln Thr Ser Glu Thr Ala Asp Asn Asp Asn
355 360 365

Ala Ser Ser Phe Thr Met
370

<210> 105
<211> 1122
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 105
atgagcgggg aatcaatgaa tttcagcgat gttttcgact ccagtgaaga ttattttgtg 60

tcagtcaata cttcatatta ctcagttgat tctgagatgt tactgtgctc cttgcaggag 120

gtcaggcagt tctccaggct atttgtaccg attgcctact ccttgatctg tgtctttggc 180

ctcctgggga atattctggt ggtgatcacc tttgcttttt ataagaaggc caggtctatg 240

acagacgtct atctcttgaa catggccatt gcagacatcc tctttgttct tactctccca 300

ttctgggcag tgagtcatgc caccggtgcg tgggttttca gcaatgccac gtgcaagttg 360

ctaaaaggca tctatgccat caactttaac tgcgggatgc tgctcctgac ttgcattagc 420

atggaccggt acatcgccat tgtacaggcg actaagtcat tccggctccg atccagaaca 480

ctaccgcgca gcaaaatcat ctgccttgtt gtgtgggggc tgtcagtcat catctccagc 540

tcaacttttg tcttcaacca aaaatacaac acccaaggca gcgatgtctg tgaacccaag 600

taccagactg tctcggagcc catcaggtgg aagctgctga tgttggggct tgagctactc 660

tttggtttct ttatcccttt gatgttcatg atattttgtt acacgttcat tgtcaaaacc 720

ttggtgcaag ctcagaattc taaaaggcac aaagccatcc gtgtaatcat agctgtggtg 780

cttgtgtttc tggcttgtca gattcctcat aacatggtcc tgcttgtgac ggctgcaaat 840

ttgggtaaaa tgaaccgatc ctgccagagc gaaaagctaa ttggctatac gaaaactgtc 900

acagaagtcc tggctttcct gcactgctgc ctgaaccctg tgctctacgc ttttattggg 960

cagaagttca gaaactactt tctgaagatc ttgaaggacc tgtggtgtgt gagaaggaag 1020

tacaagtcct caggcttctc ctgtgccggg aggtactcag aaaacatttc tcggcagacc 1080

agtgagaccg cagataacga caatgcgtcg tccttcacta tg 1122

<210> 106
<211> 367
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 106

```
Met Asn Ser Thr Glu Ser Tyr Phe Gly Thr Asp Asp Tyr Asp Asn Thr
1               5                  10                  15

Glu Tyr Tyr Ser Ile Pro Pro Asp His Gly Pro Cys Ser Leu Glu Glu
            20                  25                  30

Val Arg Asn Phe Thr Lys Val Phe Val Pro Ile Ala Tyr Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Cys Val Phe Gly Leu Leu Gly Asn Ile Met Val Val Met Thr Phe Ala
    50                  55                  60

Phe Tyr Lys Lys Ala Arg Ser Met Thr Asp Val Tyr Leu Leu Asn Met
65                  70                  75                  80

Ala Ile Thr Asp Ile Leu Phe Val Leu Thr Leu Pro Phe Trp Ala Val
                85                  90                  95

Thr His Ala Thr Asn Thr Trp Val Phe Ser Asp Ala Leu Cys Lys Leu
            100                 105                 110

Met Lys Gly Thr Tyr Ala Val Asn Phe Asn Cys Gly Met Leu Leu Leu
        115                 120                 125

Ala Cys Ile Ser Met Asp Arg Tyr Ile Ala Ile Val Gln Ala Thr Lys
    130                 135                 140

Ser Phe Arg Val Arg Ser Arg Thr Leu Thr His Ser Lys Val Ile Cys
145                 150                 155                 160

Val Ala Val Trp Phe Ile Ser Ile Ile Ile Ser Ser Pro Thr Phe Ile
                165                 170                 175

Phe Asn Lys Lys Tyr Glu Leu Gln Asp Arg Asp Val Cys Glu Pro Arg
            180                 185                 190

Tyr Arg Ser Val Ser Glu Pro Ile Thr Trp Lys Leu Leu Gly Met Gly
        195                 200                 205

Leu Glu Leu Phe Phe Gly Phe Phe Thr Pro Leu Leu Phe Met Val Phe
    210                 215                 220

Cys Tyr Leu Phe Ile Ile Lys Thr Leu Val Gln Ala Gln Asn Ser Lys
225                 230                 235                 240

Arg His Arg Ala Ile Arg Val Val Ile Ala Val Val Leu Val Phe Leu
                245                 250                 255
```

Ala Cys Gln Ile Pro His Asn Met Val Leu Leu Val Thr Ala Val Asn
260 265 270

Thr Gly Lys Val Gly Arg Ser Cys Ser Thr Glu Lys Val Leu Ala Tyr
275 280 285

Thr Arg Asn Val Ala Glu Val Leu Ala Phe Leu His Cys Cys Leu Asn
290 295 300

Pro Val Leu Tyr Ala Phe Ile Gly Gln Lys Phe Arg Asn Tyr Phe Met
305 310 315 320

Lys Ile Met Lys Asp Val Trp Cys Met Arg Arg Lys Asn Lys Met Pro
325 330 335

Gly Phe Leu Cys Ala Arg Val Tyr Ser Glu Ser Tyr Ile Ser Arg Gln
340 345 350

Thr Ser Glu Thr Val Glu Asn Asp Asn Ala Ser Ser Phe Thr Met
355 360 365

<210> 107
<211> 1101
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 107
atgaattcca cagagtccta ctttggaacg gatgattatg acaacacaga gtattattct 60

attcctccag accatgggcc atgctcccta gaagaggtca gaaacttcac caaggtattt 120

gtgccaattg cctactcctt aatatgtgtc tttggcctcc tgggcaacat tatggtggtg 180

atgacctttg ccttctacaa gaaagccaga tccatgactg acgtctacct gttgaacatg 240

gccatcacag acatactctt tgtcctcacc ctaccgttct gggcagttac tcatgccacc 300

aacacttggg ttttcagcga tgcactgtgt aaactgatga aaggcacata tgcggtcaac 360

tttaactgtg ggatgctgct cctggcctgt atcagcatgg accggtacat tgccatcgtc 420

caggcaacca aatctttccg ggtacgctcc agaacactga cgcacagtaa ggtcatctgt 480

gtggcagtgt ggttcatctc catcatcatc tcaagcccta catttatctt caacaagaaa 540

tacgagctgc aggatcgtga tgtctgtgag ccacggtaca ggtctgtctc agagcccatc 600

acgtggaagc tgctgggtat gggactggag ctgttctttg ggttcttcac ccctttgctg 660

tttatggtgt tctgctatct gttcattatc aagaccttgg tgcaggccca gaactccaag 720

aggcacagag caatccgagt cgtgatcgct gtggttctcg tgttcctggc ttgtcagatc 780

cctcacaaca tggtcctcct cgtgactgcg gtcaacacgg gcaaagtggg ccggagctgc 840
agcaccgaga aagtcctcgc ctacaccagg aacgtggccg aggtcctggc tttcctgcat 900

tgctgcctca accccgtgtt gtatgcgttt attggacaga aattcagaaa ctacttcatg 960

aagatcatga aggatgtgtg gtgtatgaga aggaagaata agatgcctgg cttcctctgt 1020

gcccgggttt actcggaaag ctacatctcc aggcagacca gtgagaccgt cgaaaatgat 1080

aatgcatcgt cctttaccat g 1101

<210> 108
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 108
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

```
                180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly Lys
    450


<210> 109
<211> 1353
```

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 109
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaaac ccggtgcaag tgtgaaggtg 60

tcatgtaaag catccggcta tacattcact aactactgga tgcattgggt gaggcaggct 120

ccaggacagg gactggaatg gatgggcgtg atcgaccctt cagattccta caccacatat 180

gcccagaagt ttcagggcag ggtgaccatg acagtggaca ctagcacctc tacagtgtac 240

atggagctgt ccagcctgag aagtgaagat acagcagtgt actattgcgc ccgcggcaat 300

tacggagtgg actatgccat ggattactgg gggcagggta ctctggtgac cgtgtctagt 360

gcttctacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 600

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 660

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 780

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200

ctggactccg acggctcctt cttcctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320

cagaagagcc tctccctgtc tcccgggaaa tga 1353

<210> 110

<211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 110

```
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 Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
            20                  25                  30

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

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

Ser Gly Ser Gly Arg Gln Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 111
<211> 645
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 111
gacatccaga tgacccagtc tccatccagc ctgagtgcct cagtgggcga tagggtgact 60

atcacctgtc gggccagcga gaacatctac ggcgctctga attggtatca gcagaagcca 120

ggaaaagctc ccaagctgct gatctacggg gctacaaacc tggcagacgg tgtgcccagt 180

cgattctccg gtagcggctc tggacgacag tattcactga ctatctctag tctgcagcct 240

gaagatttcg ccacttacta ttgccagaat gtgctgatta ctccatatac ctttggcgga 300

gggacaaaac tggagatcaa gagaactgtg gccgctccca gtgtgttcat ttttcccct 360

tcagacgaac agctgaaatc agggaccgct tccgtggtgt gtctgctgaa caatttctac 420

cctcgcgagg caaaagtgca gtggaaggtg gataacgccc tgcagagtgg caattcacag 480

gagtccgtga ccgaacagga cagcaaagat tctacatata gtctgtcatc caccctgaca 540

ctgagcaagg ctgattacga gaagcacaaa gtgtatgcat gcgaagtgac tcatcagggg 600

ctgagctctc ccgtgaccaa gtctttaac cggggtgaat gttga 645

<210> 112
<211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> 112
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 Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 113
<211> 645
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polinucleotido sintético

<400> 113
gacatccaga tgactcagag cccatccagc ctgtcagcct ccgtgggcga cagggtgacc 60

atcacatgtg gagcatccga gaacatctac ggggccctga attggtatca gaggaagccc 120

ggcaaagctc ctaagctgct gatctacggt gccacaaacc tggctgatgg cgtgccctcc 180

agattcagcg gctctggaag tgggcgcgac tatactctga ccatttctag tctgcagcca 240

gaggatttcg ccacctacta ttgccagaat gtgctgatca caccctacac ttttggtcag 300

ggcacaaaac tggaaattaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttga 645

<210> 114
<211> 56
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 114
Cys Cys Leu Gly Tyr Thr Asp Arg Ile Leu His Pro Lys Phe Ile Val
1 5 10 15

Gly Phe Thr Arg Gln Leu Ala Asn Glu Gly Cys Asp Ile Asn Ala Ile
20 25 30

Ile Phe His Thr Lys Lys Lys Leu Ser Val Cys Ala Asn Pro Lys Gln
35 40 45

Thr Trp Val Lys Tyr Ile Val Arg
50 55

<210> 115
<211> 53
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 115
Cys Cys Leu Lys Tyr Tyr Glu Lys Val Leu Pro Arg Arg Leu Val Val
1 5 10 15

Gly Tyr Arg Lys Ala Leu Asn Cys His Leu Pro Ala Ile Ile Phe Val
20 25 30

Thr Lys Arg Asn Arg Glu Val Cys Thr Asn Pro Asn Asp Asp Trp Val
35 40 45

Gln Glu Tyr Ile Lys
50

<210> 116
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> 116
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 117
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 117
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10