

BT

Organizacion CSA Ltda



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

DVN
NOV

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

04-100877

21. EXPEDIENTE No. 04-100877

54. TITULO "ANTICUERPOS ANTI-CCR5 Y USOS DE LOS
MISMOS"

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL C07K 16/28

71. SOLICITANTE F. HOFFMANN-LA ROCHE AG

DOMICILIO BASILEA, SUIZA

74. REPRESENTANTE LEGAL ALICIA LLOREDA RICAURTE
T.P. 53.215

72. BOGOTA, D.C. 27 SEP 2007

(FORMA P 10)

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-100877- -00000-0000

Fecha: 2007-09-27 16:11:40 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 134

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

01/11/2007

1 SOLICITUD DE: ☒ Patente de Invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad			
☒ Capítulo I. ☐ Capítulo II.			
2 SOLICITANTE (71)	Nombre: F. HOFFMANN-LA ROCHE AG Dirección: Grenzacherstrasse 124, CH-4070 Basilea, Suiza. Nacionalidad o Domicilio: Basilea, Suiza Lugar de Constitución: Suiza. Teléfono: 3264270 Fax: 6069701 E-mail: jllcco@lloredacamacho.com		IDENTIFICACION C.C. ☐ C.E. ☐ NIT ☐ Otro ☐ Cual _____ Número _____
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: ALICIA LLOREDA RICAURTE Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º, Bogotá, Colombia Teléfono: 3264270 Fax: 6069701 E-mail: jllcco@lloredacamacho.com		C.C. ☒ C.E. ☐ NIT ☐ Otro ☐ Cual _____ Número <u>39.690.713</u> TP <u>53.215</u>
4 INVENTOR(ES) (72)	Nombre: BRANDT, Michael; SANKURATRI, Suryanarayana; SCHUMACHER, Ralf y SEEGER, Stefan. Dirección: Faltergatter 29, 82393 Iffeldorf ; 1097 Avondale Street, San Jose, CA 95129 ; Hochfeldstrasse 78, 82377 Penzberg y Breunetsrieder Weg 22, 82377 Penzberg. Nacionalidad o Domicilio: Alemania y Estados Unidos de América.		
5 PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/EP2006/002974</u> Fecha: <u>31/03/06</u> Publicación Internacional No. <u>WO 2006/103100 A3</u> Fecha: <u>05/10/06</u>			
6 Título (54) "ANTICUERPOS ANTI-CCR5 Y USOS DE LOS MISMOS"			
7 Clasificación Internacional (51) <u>C07K 16/28</u>			
8 Prioridad	(33) País de Origen EP	(32) Fecha 01/04/05	(31) Número de Solicitud 05007138.0
9 Comprobante de Pago No. <u>07-74.077 y 07-77.451</u> Fecha: <u>13/09/07 y 25/09/07</u>			

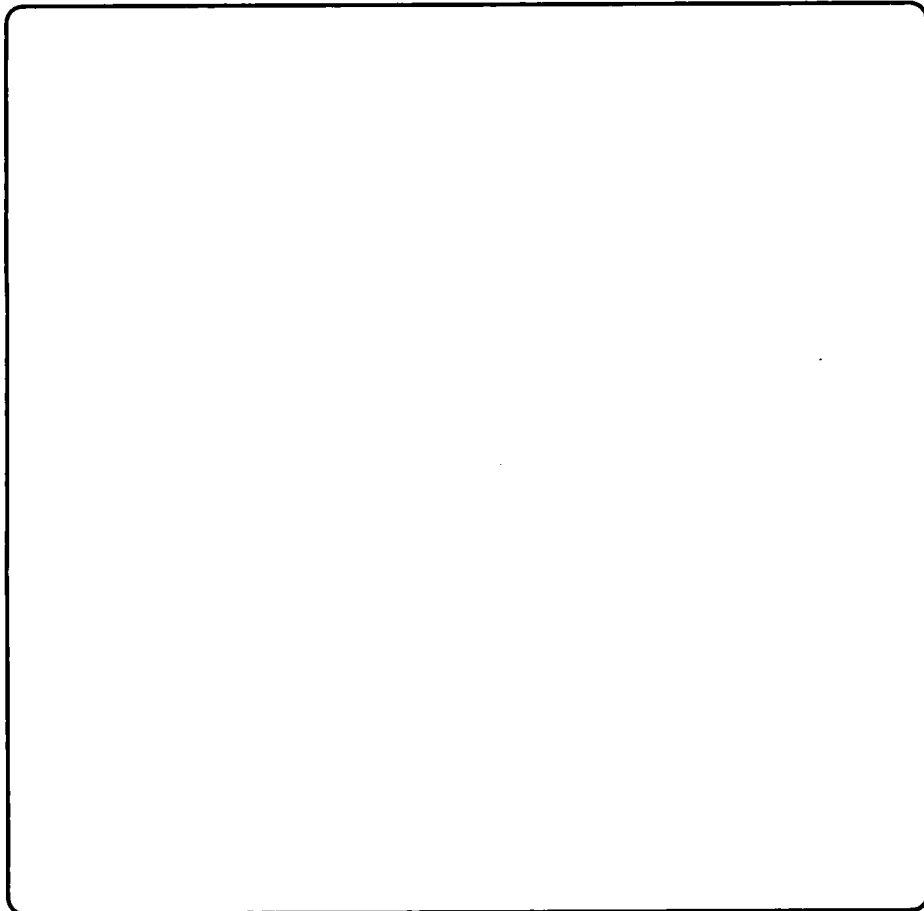
10

ANEXOS

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

11

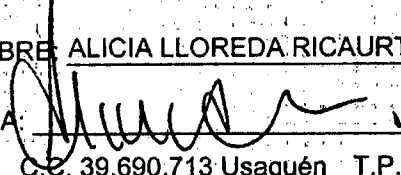
FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA: 

C.C. 39.690.713 Usaquén T.P. 53.215

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

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-100877- -00000-0000

Fecha: 2007-09-27 16:11:40 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 134

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 07 - 74,077
FECHA : SEPTIEMBRE 13 DE 2007

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	DEVOLUCION TASA			765	13/09/2007	593,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	463,000.00
		TOTAL :	\$ 463,000.00

SON: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-100877- -00000-0000

Fecha: 2007-09-27 16:11:40 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 134

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 07 - 77,451
FECHA : SEPTIEMBRE 25 DE 2007

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	47999507	25/09/2007	5,800,000.00

***** CONCEPTO *****

NT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	19,000.00
	TOTAL :	\$ 19,000.00

SON: DIEZ Y NUEVE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

32

ANEXO

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


ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215

4

TRADUCCION OFICIAL No.

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

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

AUTENTICACION OFICIAL

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. País: Suiza

Este documento público

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

3. Actuando en calidad de notario público

4. Lleva el sello del mencionado notario

Certificado

5. en Basel (Basilea)

6. el 18 de agosto 2004

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

8. bajo el No 8835/13376

9. Sello

10. Firma

Cancillería de Estado

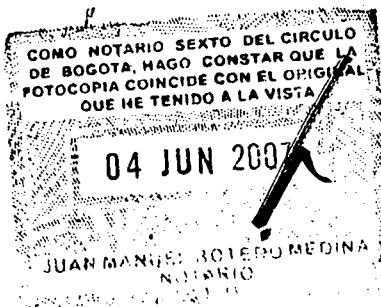
Fdo.: firma ilegible

de la ciudad de Basel (Basilea)

Ruedi Eggs

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

Bogotá, 2 de septiembre 2004



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

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

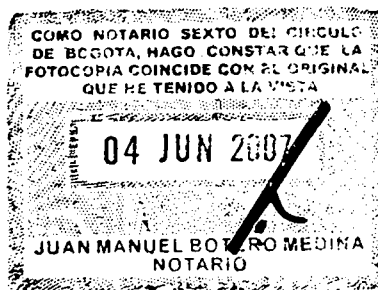
758651

2004 SET -3 P 12:12

Mano Uncochea

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

Luc
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.



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

con domicilio en 4070 Basilea, Suiza

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

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

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

Dado y firmado

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

domiciled at 4070 Basel, Switzerland

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

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

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

COMO NOTARIO DEL CIRCULO DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA

04 JUN 2007

JR. MANUEL ESTEBAN

NOTARIO

Fridolin Klausner
Holder of procuration

Given and signed this 17th day of August 2007.
F. Hoffmann-La Roche AG

Denise Strebel
Mandatory

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Suiza
Basilea

{ss

El día 17 de Agosto de 2004, compareció Fridolin Klausner y Denise Strebel, ambos ciudadanos y residentes suizos, de quien me consta que firmó el anterior documento, y quien debidamente juramentado declaró y dijo que él es titular del poder/mo datario de F.HOFFMANN-LA ROCHE AG, la compañía nombrada en el documento que antecede, una sociedad debidamente organizada y existente conforme a las leyes de Suiza, domiciliada en la ciudad de Basilea, Suiza, legalmente constituida para un período de duración que aún no ha terminado, que ejerce su objeto social; conforme a las leyes de Suiza; que el declarante está autorizado por dicha Compañía para conferir este poder; que el sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre y en representación de la expresada Compañía, es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se confiere este instrumento está comprendido dentro del de la sociedad.
El suscrito Notario ha visto los Estatutos de incorporación firmados en Suiza, ciudad de Basilea, con fecha 19 Junio 1997, y certifica que de conformidad con la legislación de dicho País, la anterior declaración juramentada es prueba suficiente de que los hechos sobre que ella versa son ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

Notary Public (Notario Público).

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

Switzerland
Basel

{ss

On this 17th day of August, 2004, personally Fridolin Klausner and Denise Strebel came both Swiss citizens and Swiss residents, to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument, who being by me duly sworn did depose and say that he is the Holder of Procuration/Mandatory of F.HOFFMANN-LA ROCHE AG, the company named within, a Corporation organized and existing under the laws of the Switzerland, domiciled at the City of Basel, legally constituted for a period of tenure not yet expired, which exercises its corporate purposes according to the laws of Switzerland; that the deponent is authorized by said Company to confer this power of attorney; that the seal affixed hereunto by the deponent in the name and on behalf of said Corporation is the corporate seal thereof; and that the purpose for which this instrument is granted is included within the corporate purposes of the Company.
The undersigned Notary Public has seen the articles of Incorporation of said Corporation executed at Suiza, ciudad de Basel, under date of 19th day of June 1997, and hereby certifies that under the laws of said Country the foregoing acknowledgment is sufficient proof that the facts therein contained are true, which he attests.

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

Dr. Peter Kuster
Notary

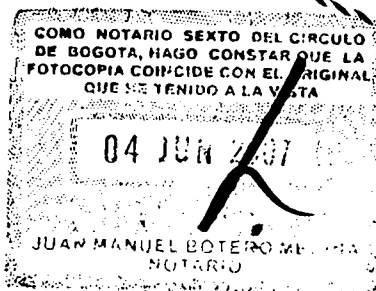
17.08.2004

2 Fr.

Dr. PETER KUSTER

Allg. Prot. No. 20

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



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

1. Country: Switzerland (Schweiz / Suisse)

This official document

2. is signed by *Dr. J. P. Kuster*

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

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

Certified **18. Aug. 2004**

5. in Basel (Bâle)

6. on

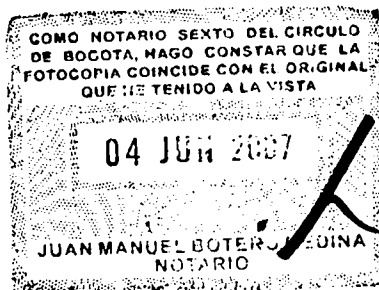
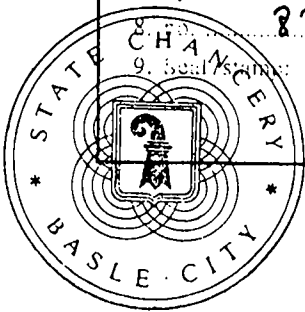
7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt

8835 / 13 376

9. Seal/Stamp:

10. Signature:

[Signature]



(21) N° de solicitud:	(51) Int Cl:	C07K 16/28
(22) Fecha de solicitud:	27-09-07	(71) Solicitante(s) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha
	05007138.0	01/04/05
(33) País	EP	
(72) Inventor(es)	BRANDT, Michael; SANKURATRI, Suryanarayana; SCHUMACHER, Ralf y SEEBER, Stefan.	
(74) Apoderado:	ALICIA LLOREDA RICAURTE	
(85) Fecha limite inicio fase nacional:	01-11-07	(87) Publicación internacional
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 05-10-06
Fecha de presentación de la solicitud:	31-03-06	N° publicación: WO 2006/103100 A3
No. de solicitud PCT/EP2006/002974		
(54) Título:	ANTICUERPOS ANTI-CCR5 Y USOS DE LOS MISMOS	

Resumen - Reivindicación(es):

Reivindicación número 1.-

Anticuerpo que se une al CCR5 que se caracteriza en que la secuencia de aminoácidos CDR3 de cadena pesada variable de dicho anticuerpo se selecciona de un grupo formado por las secuencias CDR3 de cadena pesada con la ID. DE SEC. NÚM.: 16 o 17.

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
 PCT/EP2006/002974

A. CLASIFICACION DE MATERIA
 INV. C07K16/28

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

B. CAMPOS BUSCADOS

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

C07K

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data, Sequence Search, MEDLINE, WPI Data

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
X	WO 01/42308 A (NOVARTIS AG; THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE; BARBAS, CARLOS, F; STEINB) 14 de Junio de 2001 (2001-06-14) página 21, línea 8 -línea 11	13
Y	----- AARONS EMMA J ET AL: "Adaptación del bloqueo al ingreso del virus de inmunodeficiencia humana tipo I impuesta por el anticuerpo anti-CCR5 monoclonal 2D7" VIROLOGY, vol. 287, no. 2, 1 de Septiembre de 2001 (2001-09-01), páginas 382-390, XP002329620 ISSN: 0042-6822	12, 13
A	página 383, columna 1, paragrafo 1 ----- -/--	1-11

☒ En el recuadro C se enumeran más documentos.

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

° Categorías especiales de documentos citados:

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

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

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

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

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

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

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

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

'&' documento miembro de la misma familia de patentes

Fecha de la terminación real de la búsqueda internacional

11 de Septiembre de 2006

Fecha de envío por correo del reporte de búsqueda internacional

09/10/2006

Nombre y dirección de correo de ISA
 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL-2280 HV Rijswijk
 Tel. No. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax No. (+31-70) 340-3016

Funcionario autorizado
 Voigt-Ritzer, Heike

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/002974

C. DOCUMENTOS CONSIDERADÓS RELEVANTES

Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
Y	SICILIANO SALVATORE J ET AL: "Un sitio crítico en el núcleo del receptor de la quemokina requerido para el enlazamiento e infección el virus de inmunodeficiencia humana tipo I" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 274, no. 4, 22 de Enero de 1999 (1999-01-22), páginas 1905-1913, XPO02329621 ISSN: 0021-9258	1-19
A	página 1905, column 2, paragraph 2 -----	1-11
Y	WO 88/07089 A (MEDICAL RESEARCH COUNCIL) , 22 de September de 1988 (1988-09-22) citado en la solicitud página 3 figura 6 tabla 1 reivindicación 8 -----	12, 13
Y	ANGAL S ET AL: "Una única sustitución de aminoácido anula la heterogeneidad del anticuerpo quimérico ratón/humano (IGG4)" MOLECULAR IMMUNOLOGY, ELMSFORD, NY, US, vol. 30, no. 1, Enero de 1993 (1993-01), páginas 105-108, XP000770218 ISSN: 0161-5890 citado en la solicitud todo el documento -----	12, 13
A	STEINBERGERP ET AL: "Generación y caracterización de un anticuerpo recombinante humano específico a CCR5 una aproximación a la exhibición fágica para la humanización de anticuerpos de conejo" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOLOGICAL CHEMISTS, BALTIMORE, MD, US, vol. 275, no. 46, 17 de Noviembre de 2000 (2000-11-17), páginas 36073-36078, XP000999141 ISSN: 0021-9258 todo el documento -----	1-11
A	LEHNER T: "El papel de ligandos y anticuerpos de quemokina CCR5 para correceptores en la prevención de la infección HIV" TRENDS IN IMMUNOLOGY, ELSEVIER, CAMBRIDGE, GB, vol. 23, no. 7, 1 de Julio de 2002 (2002-07-01), páginas 347-351, XP004367754 ISSN: 1471-4906 todo el documento -----	1-11

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/002974

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

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

1. ☒ Reivindicaciones Nos.:
porque se relacionan con un asunto que no es necesario que esta Autoridad busque, a saber:
Aunque la reivindicación 10 está dirigida a un método de tratamiento del cuerpo humano/animal (Artículo 52(4) EPC), la búsqueda ha sido llevada a cabo y basada en los supuestos efectos del compuesto/composición.
2. ☐ Reivindicaciones Nos.:
porque se relacionan con partes de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos prescritos hasta tal grado que no se puede llevar a cabo una búsqueda internacional significativa, específicamente:
3. ☐ Reivindicaciones No.:
porque son reivindicaciones dependientes y no están diseñadas de acuerdo con la segunda y tercera oración de la Regla 6.4(a).

Casilla III Observaciones donde falta unidad de invención (Continuación del Item 3 de la primera hoja)

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

ver hoja adicional

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

Comentario sobre Protesta ☐ Los derechos de búsqueda adicionales estuvieron acompañados por la protesta del solicitante.

☒ El pago de los derechos de búsqueda adicionales no estuvo acompañado por una protesta.

INFORMACION ADICIONAL QUE CONTINUA DE PCT/ISA/ 210

Esta Autoridad de Búsqueda Internacional encontró múltiples (grupos de) invenciones en esta solicitud internacional, como sigue:

1. Reivindicaciones: 1-11 parcialmente

El anticuerpo CCR5 comprendiendo como variable importante la cadena CDR3 Seq ID No:16 (parte de la Seq ID No: 1), ácido nucleico, composición farmacéutica, uso de éste.

2. Reivindicaciones: 1-11 parcialmente

El anticuerpo CCR5 comprendiendo como variable importante la cadena CDR3 Seq ID No:17 (parte de la Seq ID No: 3, 5, 7), ácido nucleico, composición farmacéutica, uso de éste.

3. Reivindicaciones: 12, 13

Anticuerpo humano IgG1 anti CCR5 el cual no enlaza al receptor Fc-gamma y/o C1q, método para su producción.

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL
Informe sobre miembros de familia de patentes

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/002974

Documento de patente citado en el reporte de búsqueda		Fecha de publicación		Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
WO 0142308	A	14-06-2001	AU	2841101 A	18-06-2001
WO 8807089	A	22-09-1988	AU	600675 B2	16-08-1990
			AU	1480388 A	10-10-1988
			DE	3883899 D1	14-10-1993
			DE	3883899 T2	31-03-1994
			EP	0307434 A1	22-03-1989
			GB	2202757 A	24-05-1989
			JP	1502875 T	05-10-1989
			JP	3101690 02	23-10-2000

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2006/002974

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/28

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data, Sequence Search, MEDLINE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01/42308 A (NOVARTIS AG; THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE; BARBAS, CARLOS, F; STEINB) 14 June 2001 (2001-06-14) page 21, line 8 - line 11	13
Y	AARONS EMMA J ET AL: "Adaptation to blockade of human immunodeficiency virus type 1 entry imposed by the anti-CCR5 monoclonal antibody 2D7" VIROLOGY, vol. 287, no. 2, 1 September 2001 (2001-09-01), pages 382-390, XP002329620 ISSN: 0042-6822	12,13
A	page 383, column 1, paragraph 1 ----- -/--	1-11

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

G document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 September 2006

Date of mailing of the international search report

09/10/2006

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Voigt-Ritzer, Heike

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2006/002974

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SICILIANO SALVATORE J ET AL: "A critical site in the core of the CCR5 chemokine receptor required for binding and infectivity of human immunodeficiency virus type 1" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 274, no. 4, 22 January 1999 (1999-01-22), pages 1905-1913, XP002329621 ISSN: 0021-9258	12,13
A	page 1905, column 2, paragraph 2 -----	1-11
Y	WO 88/07089 A (MEDICAL RESEARCH COUNCIL) 22 September 1988 (1988-09-22) cited in the application page 3 figure 6 table 1 claim 8 -----	12,13
Y	ANGAL S ET AL: "A SINGLE AMINO ACID SUBSTITUTION ABOLISHES THE HETEROGENEITY OF CHIMERIC MOUSE/HUMAN (IGG4) ANTIBODY" MOLECULAR IMMUNOLOGY, ELMSFORD, NY, US, vol. 30, no. 1, January 1993 (1993-01), pages 105-108, XP000770218 ISSN: 0161-5890 cited in the application the whole document -----	12,13
A	STEINBERGER P ET AL: "GENERATION AND CHARACTERIZATION OF A RECOMBINANT HUMAN CCR5-SPECIFIC ANTIBODY A PHAGE DISPLAY APPROACH FOR RABBIT ANTIBODY HUMANIZATION" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOLOGICAL CHEMISTS, BALTIMORE, MD, US, vol. 275, no. 46, 17 November 2000 (2000-11-17), pages 36073-36078, XP000999141 ISSN: 0021-9258 the whole document -----	1-11
A	LEHNER T: "The role of CCR5 chemokine ligands and antibodies to CCR5 coreceptors in preventing HIV infection" TRENDS IN IMMUNOLOGY, ELSEVIER, CAMBRIDGE, GB, vol. 23, no. 7, 1 July 2002 (2002-07-01), pages 347-351, XP004367754 ISSN: 1471-4906 the whole document -----	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2006/002974

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

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

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claim 10 is directed to a method of treatment of the human/animal body (Article 52(4) EPC), the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

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

Remark on Protest

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

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-11 partially

CCR5 antibody comprising as variable heavy chain CDR3 Seq ID No:16 (part of Seq ID No:1), nucleic acid, pharmaceutical composition, use of it.

2. claims: 1-11 partially

CCR5 antibody comprising as variable heavy chain CDR3 Seq ID No:17 (part of Seq ID No: 3, 5, 7), nucleic acid, pharmaceutical composition, use of it.

3. claims: 12,13

Human IgG1 anti-CCR5 antibody which does not bind Fc-gamma receptor and/ or C1q, method for its production.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2006/002974

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0142308	A	14-06-2001	AU 2841101 A	18-06-2001
WO 8807089	A	22-09-1988	AU 600575 B2	16-08-1990
			AU 1480388 A	10-10-1988
			DE 3883899 D1	14-10-1993
			DE 3883899 T2	31-03-1994
			EP 0307434 A1	22-03-1989
			GB 2209757 A	24-05-1989
			JP 1502875 T	05-10-1989
			JP 3101690 B2	23-10-2000

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

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional
5 de Octubre de 2006 (05.10.2006)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2006/103100 A3

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
C07K 16/28 (2006.01)

(21) Número de Solicitud Internacional:
PCT/EP2006/002974

(22) Fecha de Registro Internacional:
31 de Marzo de 2006
(31.03.2005)

(25) Idioma de registro: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Información de Prioridad:
05007138.0 1 de Abril de 2005 (01.04.2005) EP

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

(72) Inventor; e

(75) Inventor/solicitante: (para EU solamente): **BRANDT, Michael** [DE/DE]; Faltergatter 29, 82393 Iffeldorf (DE).
SANKURATRI, Suryanarayana [US/US]; 1097 Avondale Street, San Jose, CA 95129 (US).
SCHUMACHER, Ralf [DE/DE]; Hochfeldstrasse 78, 82377 Penzberg (DE). **SEEBER, Stefan** [DE/DE]; Breunetsrieder Weg 22, 82377 Penzberg (DE).

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

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

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

Declaraciones bajo la Regla 4.17:

- de la calidad del inventor (Regla 4.17 (iv))

Publicado:

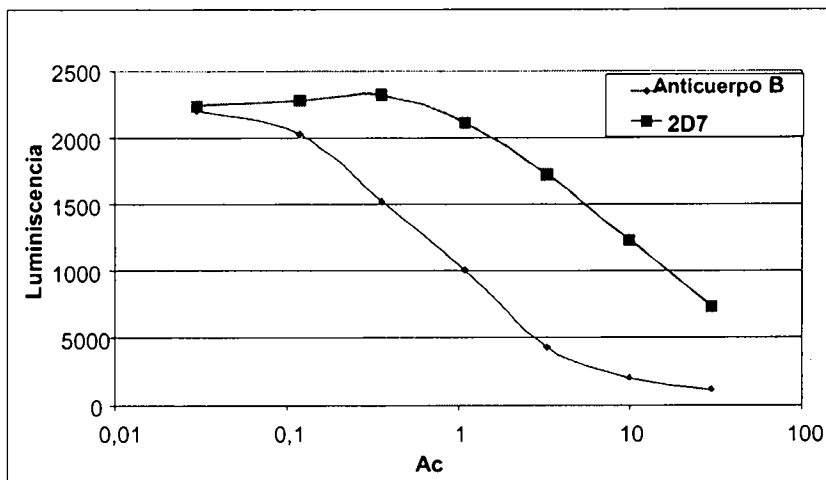
— con reporte de Búsqueda Internacional
— con una(s) indicación(es) relacionadas con material biológico suministrado bajo la Regla 13bis separado de la descripción

(88) Fecha de la publicación del reporte de búsqueda internacional:

28 de Diciembre de 2006

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

(54) Título: ANTICUERPOS ANTI-CCR5 Y USOS DE LOS MISMOS



(57) Resumen: Un anticuerpo que se une al CCR5 humano formado por una cadena pesada variable y una cadena ligera variable, que se caracteriza en que la cadena pesada variable consta de las secuencias CDR, CDR1, CDR2 y CDR3 y siendo la CDR1 seleccionada de un grupo formado por los Id. de sec. núm.: 9, 10, 11, 12; siendo la CDR2 seleccionada de un grupo formado por los Id. de sec. núm.: 13, 14, 15; y siendo la CDR3 seleccionada de un grupo formado por los Id. de sec. núm.: 16, 17, donde dichas CDR se seleccionan independientemente de cada una, o es una variante humanizada, quimérica o un fragmento de dicho anticuerpo y tiene unas propiedades ventajosas para el tratamiento de las enfermedades inmunosupresoras.

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
5 October 2006 (05.10.2006)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2006/103100 A3

(51) International Patent Classification:
C07K 16/28 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/EP2006/002974

(22) International Filing Date: 31 March 2006 (31.03.2006)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
05007138.0 1 April 2005 (01.04.2005) EP

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

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **BRANDT, Michael** [DE/DE]; Faltergatter 29, 82393 Iffeldorf (DE). **SANKU-RATRI, Suryanarayana** [US/US]; 1097 Avondale Street, San Jose, CA 95129 (US). **SCHUMACHER, Ralf** [DE/DE]; Hochfeldstrasse 78, 82377 Penzberg (DE). **SEEBER, Stefan** [DE/DE]; Breunetsrieder Weg 22, 82377 Penzberg (DE).

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

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

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declaration under Rule 4.17:

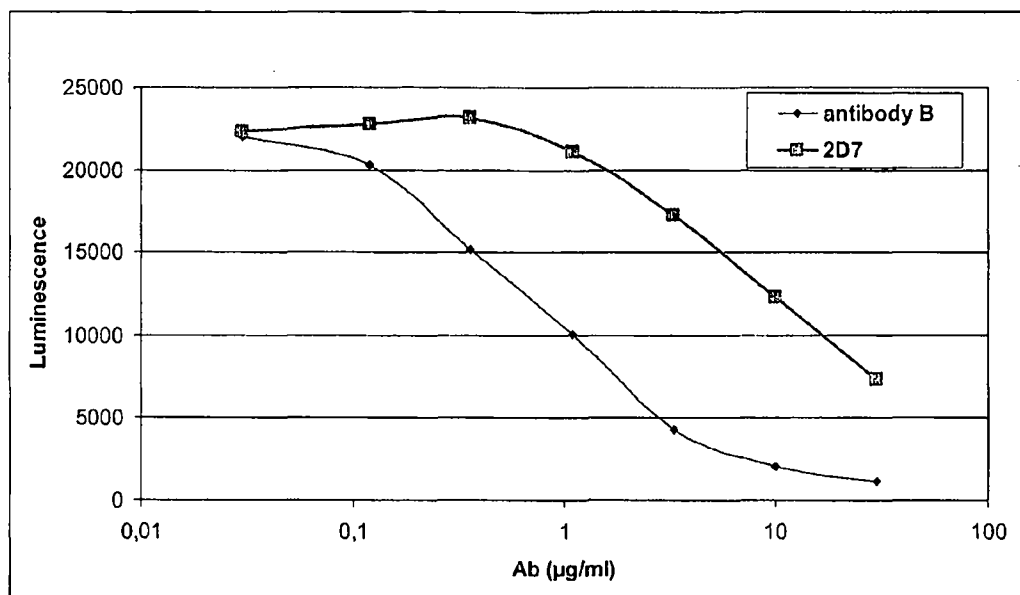
— of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

— with international search report

[Continued on next page]

(54) Title: ANTIBODIES AGAINST CCR5 AND USES THEREOF



(57) Abstract: An antibody binding to human CCR5 comprising a variable heavy chain and a variable light chain, characterized in that the variable heavy chain comprises CDR sequences CDR1, CDR2 and CDR3 and CDR1 being selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 9, 10, 11, 12, CDR2 being selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 13, 14, 15, CDR3 being selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 16, 17, wherein said CDRs are selected independently of each other, or is a chimeric, humanized variant or a fragment of said antibody, has advantageous properties for the treatment of immunosuppressive diseases.

WO 2006/103100 A3



— with (an) indication(s) in relation to deposited biological material furnished under Rule 13bis separately from the description

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

(88) Date of publication of the international search report:

28 December 2006

Referencia del archivo del solicitante o agente 23010 WO-SR	Solicitud internacional No. PCT/EP2006/002974
---	---

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

A. Las indicaciones hechas a continuación se relacionan con microorganismos u otro material biológico depositado referido en la descripción en la página <u>22</u> , línea <u>tabla</u>	
B. IDENTIFICACION DEL DEPOSITO Los depósitos adicionales se identifican en una hoja adicional ☐	
Nombre de la Institución depositaria Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ)	
Dirección de la institución depositaria (<i>incluyendo código postal y país</i>) Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig Alemania	
Fecha del depósito 18.08.2004	Número de Acceso DSM ACC2681 /2 /2 /4
C. INDICACIONES ADICIONALES (<i>dejar en blanco si no aplica</i>) Esta información continúa en una hoja adicional ☒	
Indicaciones relacionadas con la Solución Experta con respecto al material biológico depositado DSM ACC2681, DSM ACC2682, DSM ACC2683 y DSM ACC 2683	
D. ESTADOS DESIGNADOS PARA LOS CUALES SE HACEN INDICACIONES (<i>si las indicaciones no son para todos los estados designados</i>) CA (Canadá), EP (Patente Europea), SG (Singapur)	
E. SUMINISTRO SEPARADO DE INDICACIONES (<i>dejar en blanco si no aplica</i>) Las indicaciones enumeradas a continuación serán presentadas al Buró Internacional después (<i>especificar la naturaleza general de las indicaciones, v.g., "Número de Acceso de Depósito"</i>)	

Para uso de la Oficina receptora solamente ☐ Esta hoja fue recibida con la solicitud internacional Funcionario autorizado	Para uso del buró Internacional solamente ☐ Esta hoja fue recibida por el Buró Internacional el: Funcionario autorizado
---	---

C. INDICACIONES ADICIONALES (hoja adicional)

Solicitantes : F. Hoffmann-La Roche AG, et al
Referencia del archivo de los solicitantes : 23010 WO-SR
Solicitud internacional No. : PCT/EP/2006/002974

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

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

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

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

m<CCR5>Pz01.F3	DSM ACC2681
m<CCR5>Pz02.1C11	DSM ACC2682
m<CCR5>Pz03.1C5	DSM ACC2683
m<CCR5>Pz04.1F6	DSM ACC2684

en la descripción en la página 22.

Las indicaciones adicionales son:

Para la designación de CA (Canadá):

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

Para la designación de la EP (Patente Europea):

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

Para la designación de SG (Singapur):

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

Applicant's or agent's file reference 23010 WO-SR	International application No. PCT/EP2006/002974
--	--

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

(PCT Rule 13bis)

A. The indications made below relate to the deposited microorganism or other biological material referred to in the description on page <u>22</u> , line <u>table</u>	
B. IDENTIFICATION OF DEPOSIT Further deposits are identified on an additional sheet ☐	
Name of depositary institution Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ)	
Address of depositary institution (including postal code and country) Mascheroder Weg 1b D-38124 Braunschweig Germany	
Date of deposit 18.08.2004	Accession Number DSM ACC2681 /2 /3 /4
C. ADDITIONAL INDICATIONS (leave blank if not applicable) This information is continued on an additional sheet ☒	
Indications relating to the Expert Solution in respect of the deposited biological material DSM ACC2681, DSM ACC2682, DSM ACC2683 and DSM ACC 2683	
D. DESIGNATED STATES FOR WHICH INDICATIONS ARE MADE (if the indications are not for all designated States)	
CA (Canada), EP (European Patent), SG (Singapore)	
E. SEPARATE FURNISHING OF INDICATIONS (leave blank if not applicable)	
The indications listed below will be submitted to the International Bureau later (specify the general nature of the indications e.g., "Accession Number of Deposit")	

For receiving Office use only	For International Bureau use only
☐ This sheet was received with the international application	☐ This sheet was received by the International Bureau on:
Authorized officer	Authorized officer

C. ADDITIONAL INDICATIONS (additional sheet)

Applicants : F. Hoffmann-La Roche AG, et al.

Applicants file reference : 23010 WO-SR

International application No. : PCT/EP2006/002974

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

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

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

m<CCR5>Pz01.F3	DSM ACC2681
m<CCR5>Pz02.1C11	DSM ACC2682
m<CCR5>Pz03.1C5	DSM ACC2683
m<CCR5>Pz04.1F6	DSM ACC2684

in the description on page 22.

The additional indications are:

For CA (Canada) designation:

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

For EP (European Patent) designation:

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

For SG (Singapore) designation:

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

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES

De la
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Para: ver forma PCT/ISA/220		PCT OPINION ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL (PCT Regla 43bis.1)	
		Fecha de envío por correo (día/mes/año) ver forma PCT/ISA/210 (segunda página)	
Registro de referencia del solicitante o agente ver forma PCT/ISA/220		PARA FUTURAS ACCIONES Ver el párrafo 2 a continuación	
Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/002974	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 31.03.2006	Fecha de prioridad (día/mes/año) 01.04.2005	
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC INV. C07K16/28			
Solicitante F. HOFFMANN-LA ROCHE AG			
1. Esta opinión contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems: ☒ Casilla No. I Bases del Reporte ☐ Casilla No. II Prioridad ☒ Casilla No. III No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad Industrial. ☒ Casilla No. IV Falta de unidad de invención ☒ Casilla No. V Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación. ☐ Casilla No. VI Ciertos documentos citados ☐ Casilla No. VII Ciertos defectos en la solicitud internacional ☒ Casilla No. VIII Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional			

Casilla No. I. Bases de la opinión

1. Respecto al idioma, esta opinión ha sido establecida con base en:

- ☒ la solicitud internacional en el idioma en el cual se presentó
- ☐ una traducción de la solicitud internacional en , la cual es el idioma de una traducción proporcionada para los propósitos de búsqueda internacional (Reglas 12.3(a) y 23.1(b)).

2. Respecto a cualquier nucleótido y/o secuencia aminoácida revelada en la solicitud internacional y necesaria para la invención reivindicada, esta opinión se ha establecido según:

a. tipo de material:

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

b. formato de material:

- ☒ en formato escrito
- ☒ en formato legible por computador

c. tiempo de presentación/ suministro:

- ☒ contenido en la solicitud internacional según se registró
- ☒ registrada junto con la solicitud internacional en formato legible por computador
- ☐ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad para la búsqueda.

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

4. Comentarios adicionales:

Casilla No. IV. Falta de unidad de invención

1. ☒ En respuesta a la invitación (Forma PCT/ISA/206) a pagar derechos adicionales, el solicitante ha, dentro del limite de tiempo aplicable:
- ☒ pagado derechos adicionales.
 - ☐ pagado derechos adicionales bajo protesta y, si aplica, los derechos de la protesta.
 - ☐ pagado derechos adicionales bajo protesta pero los derechos de la protesta no se pagaron
 - ☐ no ha pagado derechos adicionales.
2. ☐ Esta Autoridad encontró que el requisito de unidad de invención no se ha cumplido y escogió no invitar al solicitante a pagar derechos adicionales.
3. Esta Autoridad considera que el requisito de unidad de invención de acuerdo con las Reglas 13.1, 13.2 y 13.3 es
- ☐ se ha cumplido.
 - ☒ no se ha cumplido por las siguientes razones:

ver hoja separada
4. Por consiguiente, las siguientes partes de la solicitud internacional han sido establecidas con respecto a este reporte:
- ☒ todas las partes.
 - ☐ las partes que se relacionan con las reivindicaciones Nos.

Casilla No. V Afirmación razonada bajo la Regla 43bis.1 (a)(i) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación

1. Afirmación

Novedad (N)	Si: Reivindicaciones 1-12
	No: Reivindicaciones 13
Nivel Inventivo (IS)	Si: Reivindicaciones 2-11
	No: Reivindicaciones 1,12,13
Aplicabilidad Industrial (IA)	Si: Reivindicaciones 1-9, 11-13
	No: Reivindicaciones

2. Citaciones y explicaciones (Regla 70.7):

ver hoja separada

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

Las preguntas de si la invención reivindicada parece ser novedosa, comprender un nivel inventivo (ser no obvia) o ser aplicable industrialmente no se han examinado respecto a:

- ☐ toda la solicitud internacional,
☒ reivindicaciones Nos. 10

porque:

- ☒ dicha solicitud internacional, o dichas reivindicaciones Nos. 10 se relacionan con la siguiente materia objeto que no requiere un examen preliminar internacional (*especifique*):

ver hoja separada

- ☐ la descripción, reivindicaciones o dibujos (*indique los elementos particulares a continuación*) de dichas reivindicaciones Nos. son tan poco claros que no se podría formar una opinión significativa (*especifique*):
- ☐ las reivindicaciones, o dichas reivindicaciones Nos. son sustentadas tan inadecuadamente por la descripción que no se podría formar una opinión significativa.
- ☐ no se ha establecido ningún reporte de búsqueda internacional para toda la solicitud o para dichas reivindicaciones Nos.
- ☐ no pudo establecerse una opinión significativa sin el listado de secuencia; el solicitante, dentro del límite de tiempo prescrito, no:
- ☐ suministró un listado de secuencias en papel para cumplir con el estándar para ello provisto en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, y dicho listado no estuvo disponible para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta.
 - ☐ suministró un listado de secuencias en formato electrónico para cumplir en el estándar para ello provisto en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas y tal listado no estuvo disponible para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta.
 - ☐ pagó la tarifa de suministro tardío para el suministro de un listado de secuencia en respuesta a una invitación de acuerdo con las Reglas 13^{ter}.1(a) o (b).
- ☐ no pudo establecerse una opinión significativa sin las tablas relacionadas con los listados de secuencias; el solicitante, dentro del límite de tiempo prescrito, no suministró dichas tablas en formato electrónico para cumplir con los requisitos técnicos para ello provistos en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas y dichas tablas no estuvieron disponibles para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta.
- ☐ las tablas relacionadas con el nucleótido y/o lista de secuencia aminoácida, si están en formato legible por computador únicamente, no cumplen con los requerimientos técnicos proporcionados en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.
- ☐ Ver la hoja separada para más detalles.

Casilla No. VIII Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional

Las siguientes observaciones sobre la claridad de las reivindicaciones, descripción, y dibujos o sobre la pregunta de si las reivindicaciones están completamente soportadas por la descripción, esta hechas:

ver hoja separada

Se hace referencia a los siguientes documentos:

- D1: WO 01/42308 A (NOVARTIS AG; THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE; BARBAS, CARLOS, F; STEINB) 14 de junio de 2001 (2001-06-14)
- D2: ANGAL S ET AL: "SINGLE AMINO ACID SUBSTITUTION ABOLISHES THE HETEROGENEITY OF CHIMERIC MOUSE/HUMAN (IGG4) ANTIBODY" MOLECULAR IMMUNOLOGY, ELMSFORD, NY, US, vol. 30, no. 1, enero de 1993 (1993-01), páginas 105-108
- D3: WO 88/07089 A (MEDICAL RESEARCH COUNCIL) 22 de septiembre de 1988 (1988-09-22)
- D4: AARONS EMMA J ET AL: "Adaptation to blockade of human immunodeficiency virus type 1 entry imposed by the anti-CCR5 2D7" VIROLOGY, vol. 287, no. 2, 1 de septiembre de 2001 (2001-09-01), páginas 382-390

Re Item III

No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial

La reivindicación 10 se relaciona con la materia objeto que esta Autoridad considera que está cubierta por la disposición de la Regla 67.1(iv) PCT. Por consiguiente, no se formulará ninguna opinión respecto a la aplicabilidad industrial de la materia objeto de esta reivindicación (Artículo 34(4)(a)(I) PCT).

Para la evaluación de esta reivindicación sobre la pregunta de si es aplicable industrialmente, no existen criterios unificados en los Estados Contratantes del PCT. La patentabilidad también puede depender de la formulación de la reivindicación. La EPO, por ejemplo, no reconoce como aplicable industrialmente la materia objeto de las reivindicaciones en cuanto al uso de un compuesto en el tratamiento médico, pero puede permitir, sin embargo, reivindicaciones a un compuesto conocido para primer uso en el tratamiento médico y el uso de dicho compuesto para la fabricación de un medicamento para un nuevo tratamiento médico.

Re Item IV

Falta de unidad de invención

La presente reivindicación no cumple con los requerimientos de unidad de invención. En vista de la revelación de la presente solicitud, el problema técnico que hay que resolver es la provisión de anticuerpos alternativos anti-CCR5. Muchos anticuerpos anti-CCR5 han sido descritos en la técnica anterior (ver la descripción página 2, línea 32 - página 3, línea 10). D4 revela que el anticuerpo monoclonal 2D7 inhibe la entrada del HIV-1. Se deduce que no hay ninguna característica técnica especial común para los anticuerpos individuales revelados en la presente solicitud que definiría una contribución apreciable sobre la técnica anterior respecto a novedad e inventividad.

La solicitud se divide en al menos tres grupos de invenciones según se describen en la invitación a pagar derechos adicionales. Se han pagado dos derechos de búsqueda adicionales. La opinión escrita por consiguiente se relaciona con las tres invenciones.

Re Item V

Afirmación razonada respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial; menciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación

1. Invención

1.1 Novedad

La materia objeto de las reivindicaciones 1, 2a, 3-11 que se relaciona con la invención 1 es nueva (Artículo 33(2) PCT)

1.2 Nivel inventivo

La técnica anterior más cercana está representada por la enseñanza de D4 que revela que el anticuerpo CCR5 2D7 bloquea la entrada a la célula dependiente CCR5 por el HIV-1.

Sin embargo, hay una diferencia entre 2D7 y el anticuerpo A (que comprende la Seq ID No: 1 y 2 de cadenas pesadas y ligeras) de la presente solicitud que puede verse en los Ejemplos 3 y 4.

El problema técnico que la presente solicitud tiene que resolver por lo tanto yace en la provisión de anticuerpos anti-CCR5 alternativos capaces de reducir la entrada del HIV-1 en las células.

El problema ha sido solucionado por la provisión del anticuerpo A (que comprende la

Seq ID No: 1 y 2 de cadenas pesadas y ligeras) que inhibe el crecimiento del HIV-1 en PBMC (Ejemplo 4) y la fusión célula-célula (Ejemplo 3). Este anticuerpo no es una alternativa obvia a 2D7. Sin embargo, no es probable que un anticuerpo CCR5 que tenga la cadena pesada CDR3 codificada por la Seq ID No: 16 (reivindicación 1) sea capaz de inhibir el crecimiento del HIV-1 en PBMC y la fusión célula-célula como lo hace el anticuerpo A.

La materia objeto de las reivindicaciones 2a, 3-11 que se relaciona con la invención 1 por lo tanto parece que cumple con los requerimientos de paso inventivo mientras que la materia objeto de la reivindicación 1 no.

2. Invención

2.1 Novedad

La materia objeto de las reivindicaciones 1, 2b-d, 3-11 que se relaciona con la invención 2 es nueva (Artículo 33(2) PCT).

2.2 Nivel inventivo

La técnica anterior más cercana está representada por la enseñanza de D4 que revela que el anticuerpo CCR5 2D7 bloquea la entrada a la célula dependiente CCR5 por el HIV-1.

Sin embargo, hay una diferencia entre 2D7 y el anticuerpo B, C o D (que comprende la Seq ID No: 3, 5 o 7 y 4, 6 u 8 de cadenas pesadas y ligeras) de la presente solicitud.

El problema técnico que la presente solicitud tiene que resolver por lo tanto yace en la provisión de anticuerpos anti-CCR5 alternativos capaces de reducir la entrada del HIV-1 en las células.

El problema ha sido solucionado por la provisión del anticuerpo B y C que inhibe el crecimiento del HIV-1 en PBMC (Ejemplo 4) y la fusión célula-célula (Ejemplo 3). Estos anticuerpos no son alternativas obvias a 2D7.

No se revelan resultados para el anticuerpo D. El anticuerpo D sin embargo tiene la misma secuencia CDR3 en su cadena pesada y ligera que el anticuerpo B y C. Toda su cadena ligera (Seq ID No: 8) es idéntica a la del anticuerpo C (Seq ID No: 6). Su cadena pesada difiere en dos posiciones aa de las cadenas pesadas de cada anticuerpo B y C. Por lo tanto parece probable que el anticuerpo D, también, es capaz de inhibir el crecimiento del HIV-1 en PBMC y la fusión célula-célula.

Sin embargo, no es probable que un anticuerpo CCR5 que tenga la cadena pesada CDR3 codificada por la Seq ID No: 17 (reivindicación 1) sea capaz de inhibir el crecimiento del HIV-1 en PBMC y la fusión célula-célula como lo hacen los anticuerpos B y C.

La materia objeto de las reivindicaciones 2b-d, 3-11 que se relaciona con la invención 2 por lo tanto parece que cumple con los requerimientos de paso inventivo mientras que la materia objeto de la reivindicación 1 no.

3. Invención

3.1 Novedad

La materia objeto de la reivindicación 13 comprende fragmentos de Fab dirigidos contra CCR5 y por consiguiente no es nueva. D1 v.g. revela ST6 un fragmento de Fab específico para el dominio extracelular terminal N de CCR5. "Este Fab se aisló a partir de un conejo inmunizado utilizando la aproximación de expresión de fago." (D1 página 21, líneas 8-11).

La materia objeto de la reivindicación 13 por consiguiente no es nueva.

La materia objeto de la reivindicación 12 parece ser, aunque no esté claramente formulada como resultado a lograrse, nueva (Artículo 33(2) PCT).

3.2 Nivel inventivo

La reivindicación 12 se relaciona con la producción de anticuerpos anti-CCR5 que no unen al receptor Fcγ y/o a C1q. Las mutaciones en la región constante de los anticuerpos de IgG que conducen a tales pérdidas de la función efectora son conocidas en el estado de la técnica (v.g. D2 o D3). Aplicarlas a los anticuerpos CCR5 (que son conocidos en la técnica anterior, también, v.g. D4) no comprende un paso inventivo.

Por consiguiente, la materia objeto de la reivindicación 12 no comprende un paso inventivo.

Re Item VIII

Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional

1. La reivindicación 12 intenta definir la materia objeto en términos del resultado que pretende ser logrado. Sin embargo, parece posible definir la materia objeto en términos más concretos, v.g., en términos de que un cierto efecto va a ser logrado.
2. Las líneas de la célula hibridoma reivindicada en la reivindicación 5 deben caracterizarse en dicha reivindicación por su número de declaración.

PATENT COOPERATION TREATY

Sr CCNO 23070 CO Roche

WV

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/EP2006/002974

International filing date (day/month/year)
31.03.2006

Priority date (day/month/year)
01.04.2005

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07K16/28

Termin

Applicant
F. HOFFMANN-LA ROCHE AG

09.01.2007 not ✓

1. This opinion contains indications relating to the following items:

(29.11.06)

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ 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 Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

Termin

01.02.2007 not ✓
(20.12.06)

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Voigt-Ritzer, Heike

Telephone No. +49 89 2399-7187



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2006/002974

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☒ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☒ on paper
 - ☒ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☒ contained in the international application as filed.
 - ☒ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
4. Additional comments:

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/EP2006/002974

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

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

- ☐ the entire international application
- ☒ claims Nos. 10

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 10 relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

see separate sheet

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

Box No. IV Lack of unity of invention

1. ☒ In response to the invitation (Form PCT/ISA/206) to pay additional fees, the applicant has, within the applicable time limit:
- ☒ paid additional fees
 - ☐ paid additional fees under protest and, where applicable, the protest fee
 - ☐ paid additional fees under protest but the applicable protest fee was not paid
 - ☐ not paid additional fees
2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose not to invite the applicant to pay additional fees.
3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rule 13.1, 13.2 and 13.3 is
- ☐ complied with
 - ☒ not complied with for the following reasons:
see separate sheet
4. Consequently, this report has been established in respect of the following parts of the international application:
- ☒ all parts.
 - ☐ the parts relating to claims Nos.

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	1-12
	No: Claims	13
Inventive step (IS)	Yes: Claims	2-11
	No: Claims	1,12,13
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-9,11-13
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2006/002974

Box No. VIII Certain observations on the international application

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

see separate sheet

Reference is made to the following documents:

- D1: WO 01/42308 A (NOVARTIS AG; THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE; BARBAS, CARLOS, F; STEINB) 14 June 2001 (2001-06-14)
- D2: ANGAL S ET AL: "A SINGLE AMINO ACID SUBSTITUTION ABOLISHES THE HETEROGENEITY OF CHIMERIC MOUSE/HUMAN (IGG4) ANTIBODY" MOLECULAR IMMUNOLOGY, ELMSFORD, NY, US, vol. 30, no. 1, January 1993 (1993-01), pages 105-108
- D3: WO 88/07089 A (MEDICAL RESEARCH COUNCIL) 22 September 1988 (1988-09-22)
- D4: AARONS EMMA J ET AL: "Adaptation to blockade of human immunodeficiency virus type 1 entry imposed by the anti-CCR5 monoclonal antibody 2D7" VIROLOGY, vol. 287, no. 2, 1 September 2001 (2001-09-01), pages 382-390

Re Item III

Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

Claim 10 relates to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of this claim (Article 34(4)(a)(I) PCT).

For the assessment of this claim on the question whether it is industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claim. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

Re Item IV

Lack of unity of invention

The present application does not comply with the requirements of unity of invention. In view of the disclosure of the present application, the technical problem to be solved is the provision of alternative anti-CCR5 antibodies. Many anti-CCR5 antibodies have been described in the prior art (see description page 2, line 32 - page 3, line 10). D4 reveals that the monoclonal antibody 2D7 inhibits HIV-1 entry. It follows that there is no common special technical feature for the individual antibodies disclosed in the present application that would define an appreciable contribution over the prior art in respect to novelty and inventiveness. The application splits up into at least three groups of inventions as lined out in the invitation to pay additional fees. Two additional search fees have been paid. The written opinion consequently relates to all three inventions.

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Invention

1.1 Novelty

The subject-matter of claims 1, 2a, 3-11 relating to Invention 1 is new (Article 33(2) PCT).

1.2 Inventive step

The closest prior art is represented by the teaching of D4 disclosing that the CCR5 antibody 2D7 blocks CCR5-dependent cell entry by HIV-1.

However, there is a difference between 2D7 and antibody A (comprising heavy and light chain Seq ID No: 1 and 2) of the present application which can be seen in Example 3 and 4.

The technical problem to be solved by the present application therefor lies in the provision of alternative anti CCR5 antibodies capable of reducing HIV-1 entry into cells.

The problem has been solved by the provision of antibody A (comprising heavy and

light chain Seq ID No: 1 and 2) which inhibits HIV-1 growth in PBMC (Example 4) and cell-cell fusion (Example 3). This antibody is a non-obvious alternative to 2D7.

It is however not likely that any CCR5 antibody having the heavy chain CDR3 encoded by Seq ID No:16 (claim 1) is capable of inhibiting HIV-1 growth in PBMC and cell-cell fusion as antibody A does.

The subject-matter of claims 2a, 3-11 relating to Invention 1 therefore seems to fulfil the requirements of inventive step whereas the subject-matter of claim 1 does not.

2. Invention

2.1 Novelty

The subject-matter of claims 1, 2b-d, 3-11 relating to Invention 2 is new (Article 33(2) PCT).

2.2 Inventive step

The closest prior art is represented by the teaching of D4 disclosing that the CCR5 antibody 2D7 blocks CCR5-dependent cell entry by HIV-1.

However, there is a difference between 2D7 and antibody B, C or D (comprising heavy and light chain Seq ID No: 3, 5 or 7 and 4, 6 or 8) of the present application. The technical problem to be solved by the present application therefor lies in the provision of alternative anti CCR5 antibodies capable of reducing HIV-1 entry into cells.

The problem has been solved by the provision of antibody B and C which inhibit HIV-1 growth in PBMC (Example 4) and cell-cell fusion (Example 3). These antibodies are non-obvious alternatives to 2D7.

No results are disclosed for antibody D. Antibody D however has the same CDR3 sequence in its light and heavy chain as antibody B and C. Its entire light chain (Seq ID No: 8) is identical to the one of antibody C (Seq ID No: 6). Its heavy chain differs in two aa positions from the heavy chains of each antibody B and C. It therefore seems likely that antibody D, too, is capable of inhibiting HIV-1 growth in PBMC and cell-cell fusion.

It is however not likely that any CCR5 antibody having the heavy chain CDR3 encoded by Seq ID No:17 (claim 1) is capable of inhibiting HIV-1 growth in PBMC and cell-cell fusion as antibodies B and C do.

The subject-matter of claims 2b-d, 3-11 relating to Invention 2 therefore seems to fulfil the requirements of inventive step whereas the subject-matter of claim 1 does not.

3. Invention

3.1 Novelty

The subject-matter of claim 13 comprises Fab-fragments directed against CCR5 and is consequently not new. D1 e.g. discloses ST6 a Fab fragment specific for the N-terminal extra-cellular domain of CCR5. "This Fab was isolated from an immunized rabbit using the phage display approach." (D1 page 21, lines 8-11).

The subject-matter of claim 13 is consequently not new.

The subject-matter of claim 12 seems to be, even though unclearly formulated as result to be achieved, new (Article 33(2) PCT).

3.2 Inventive step

Claim 12 relates to the production of anti-CCR5 antibodies which do not bind Fcγ receptor and/or C1q. Mutations in the constant region of IgG antibodies leading to such a loss of effector function are known in the prior art (e.g. D2 or D3). Applying them on CCR5 antibodies (which are known in the prior art, too, e.g. D4) does not involve an inventive step.

Consequently, the subject-matter of claim 12 does not involve an inventive step.

Re Item VIII

Certain observations on the international application

1. Claim 12 attempts to define the subject-matter in terms of the result to be achieved. It however appears possible to define the subject-matter in more concrete terms, viz. in terms of that a certain effect is to be achieved.
2. The hybridoma cell lines claimed in claim 5 should be characterized in said claim by their deposition number.

ANTICUERPOS ANTI-CCR5 Y USOS DE LOS MISMOS

RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

Un anticuerpo que se une al CCR5 humano formado por una cadena pesada variable y una cadena ligera variable, que se caracteriza en que la cadena pesada variable consta de las secuencias CDR, CDR1, CDR2 y CDR3 y siendo la CDR1 seleccionada de un grupo formado por los Id. de sec. núm.: 9, 10, 11, 12; siendo la CDR2 seleccionada de un grupo formado por los Id. de sec. núm.: 13, 14, 15; y siendo la CDR3 seleccionada de un grupo formado por los Id. de sec. núm.: 16, 17, donde dichas CDR se seleccionan independientemente de cada una, o es una variante humanizada, quimérica o un fragmento de dicho anticuerpo y tiene unas propiedades ventajosas para el tratamiento de las enfermedades inmunosupresoras.

Caso 23010

La presente invención está relacionada con anticuerpos anti-CCR5, métodos para su producción, compuestos farmacéuticos que contienen dichos anticuerpos y usos de los mismos.

A lo largo de los últimos años ha surgido una creciente comprensión de los mecanismos específicos que utiliza el VIH-1 para entrar en las células diana. Este hecho ha facilitado los esfuerzos para desarrollar fármacos que ataquen pasos diferenciados de este proceso. El uso clínico del primer fármaco para la entrada en las dianas ha sido aprobado recientemente (enfuvirtide, T20; Lazzarin, A., et al., N. Engl J. Med. 348 (2003) 2186-2195). Enfuvirtide es un fármaco peptídico que bloquea la fusión en un estadio posterior a la unión al receptor de quimiocina.

La infección por VIH-1 se inicia mediante interacciones entre la glicoproteína de cubierta vírica (Env) y un complejo de receptores celulares formado por el CD4 y un receptor de quimiocina (Pierson, T.C., and Doms, R.W., Immuno. Lett. 85 (2003) 113-118; y Kilby, J.M., and Eron, J.J., N. Engl. J. Med. 348 (2003) 2228-2238). Env posee dos subunidades: la glicoproteína de superficie gp 120, que interacciona con los receptores CD4 celulares y que está asociada de manera no covalente con la subunidad transmembrana vírica gp 41. La gp 41 ancla la gp 120 a la membrana vírica y también es la responsable de la fusión. La unión de la gp 120 al CD4 en las células desencadena un cambio conformacional que expone o crea un sitio de unión que permite la interacción de la gp 120 con un receptor de quimiocina de superficie de membrana, el «co-

receptor». Los receptores de quimiocina son receptores transmembrana acoplados a proteína G con siete regiones (7 TM GPCR) que normalmente transmiten señales en respuesta a las quimiocinas, citocinas de pequeño tamaño con función quimio-táctica e inflamatoria, entre otras.

Una gran proporción de fármacos de uso clínico está dirigida hacia otros 7TM GPCR por lo que la utilización de estas moléculas como diana para bloquear la entrada vírica es una extensión de los programas pasados de desarrollo de fármacos con más éxito. Los aislamientos de VIH-1 necesitan el CD4 y un co-receptor para entrar en las células e infectarlas. El receptor de quimiocina CC CCR5 es un co-receptor para cepas M-tróficas (R5) y desempeña un papel crucial en la transmisión sexual del VIH-1 (Berger, E.A., AIDS 11 (Suppl. A) (1997) S3-S16; Bieniasz, P.D., and Cullen, B.R., Frontiers in Bioscience 3 (1998) 44-58; Littman, D.R., Cell 93 (1998) 677-680).

El CCR5 lo utilizan la mayoría de aislamientos primarios de VIH-1 y es clave para el establecimiento y el mantenimiento de la infección. Además, la función del CCR5 es prescindible para la salud humana. Un alelo del CCR5 mutante, "CCR5 Δ 32", codifica una proteína truncada no funcional (Samson, M., et al., Nature 382 (1996) 722-725; Dean, M., et al., Science 273 (1996) 1856-1862). Los individuos homocigóticos para la mutación carecen de la expresión del CCR5 y están protegidos fuertemente frente a la infección por VIH-1. No muestran ninguna consecuencia fenotípica evidente y son altamente resistentes a la infección por VIH M-trópico, mientras que los individuos heterocigóticos presentan una progresión de la enfermedad re-

tardada (Schwarz, M.K., and Wells, T.N., Nat. Rev. Drug Discov. 1 (2002) 347-358). La carencia del CCR5 no parece tener consecuencias adversas aparentes, probablemente porque el CCR5 forma parte de una red altamente redundante de quimiocinas como receptor de las α quimiocinas MIP 1 α , MIP-1 β y RANTES, las cuales tienen en común muchas funciones solapadas, y la mayor parte de las cuales tiene receptores alternativos (Rossi, D., and Zlotnik, A., Annu. Rev. Immunol. 18 (2000) 217-243). La identificación del CCR5 como un co-receptor del VIH-1 se basó en la capacidad de sus ligandos, MIP-1 α , MIP-1 β y RANTES, para bloquear la infección por aislamientos de R5 pero no de R5X4 o X4 (Cocchi, F., et al., Science 270 (1995) 1811-1815).

El CCR5 también es un receptor de las quimiocinas «cluster» producidas principalmente durante respuestas inflamatorias y que controlan el reclutamiento de neutrófilos (quimiocinas CXC), macrófagos y subgrupos de células T (células colaboradoras Th1 y Th2). Las respuestas Th1 son característicamente las que implican inmunidad celular efectiva frente a virus y tumores, por ejemplo, mientras que las respuestas Th2 se cree que son cruciales en las alergias. Por lo tanto, los inhibidores de estos receptores de quimiocinas pueden servir como inmunomoduladores: para las respuestas Th1, las respuestas superactivas se ven amortiguadas, por ejemplo, en casos de autoinmunidad como la artritis reumatoide o, para las respuestas Th2, para atenuar ataques de asma o respuestas alérgicas como la dermatitis atópica. (Véase por ejemplo Schols, D., Curr. Top. Med. Chem. 4 (2004) 883-893; Mueller, A., and Strange,

P.G., Int. J. Biochem. Cell Biol. 36 (2004) 35-38; Kazmierski, W.M., et al., Curr. Drug Targets Infect. Disord. 2 (2002) 265-278; Lehner, T., Trends Immunol. 23 (2002) 347-351).

Algunos anticuerpos anti-CCR5 son PRO 140 (Olson, W.C., et al., J. Virol. 73 (1999) 4145-4155) y 2D7 (Samson, M., et al., J. Biol. Chem 272 (1997) 24934-24941). Otros anticuerpos adicionales se mencionan en US20040043033, US6610834, US20030228306, US20030195348, US20030166870, US20030166024, US20030165988, US20030152913, US20030100058, US20030099645, US20030049251, US20030044411, US20030003440, US6528625, US20020147147, US20020146415, US20020106374, US20020061834, US20020048786, US20010000241, PE1322332, PE1263791, PE1207202, PE1161456, PE1144006, WO2003072766, WO2003066830, WO2003033666, WO2002083172, WO0222077, WO0158916, WO0158915, WO0143779, WO0142308.

El objeto de la invención es proporcionar nuevos anticuerpos anti-CCR5 cuya función principal sea su uso como agente terapéutico para el SIDA.

Resumen de la Invención

La invención se compone de un anticuerpo de unión a CCR5 que se caracteriza porque la secuencia de aminoácidos CDR3 de cadena pesada variable de dicho anticuerpo es seleccionada a partir del grupo que consiste en las secuencias CDR3 de cadena pesada ID. DE SEC. NÚM.: 16 o 17.

La invención proporciona preferiblemente un anticuerpo de unión a CCR5, que comprende una cadena pesada variable y una cadena ligera variable, que se caracteriza porque la cadena

pesada variable comprende las secuencias CDR: CDR1, CDR2 y CDR3; siendo CDR1 seleccionada a partir del grupo formado por los Id. de sec. núm.: 9, 10, 11, 12; CDR2 seleccionada a partir del grupo formado por los Id. de sec. núm.: 13, 14, 15 y CDR3 seleccionada a partir del grupo formado por los Id. de sec. núm.: 16,17; donde dichas CDR son seleccionadas independientemente unas de otras.

Según la invención, el anticuerpo preferiblemente se caracteriza porque la cadena ligera variable comprende las secuencias CDR: CDR1, CDR2 y CDR3; la CDR1 es seleccionada a partir de los Id. de sec. núm.: 18, 19, 20; la CDR2 es seleccionada a partir de los Id. de sec. núm.: 21, 22, 23 y la CDR3 es seleccionada a partir de los Id. de sec. núm.: 24 o 25; ; donde dichas CDR son seleccionadas independientemente unas de otras.

El anticuerpo se caracteriza preferiblemente por contener como CDR de cadena pesada las CDR de ID. DE SEC. NÚM.: 1 y como CDR de cadena ligera las CDR de ID. DE SEC. NÚM.: 2, como CDR de cadena pesada las CDR de ID. DE SEC. NÚM.: 3 y como CDR de cadena ligera las CDR de ID. DE SEC. NÚM.: 4, como CDR de cadena pesada las CDR de ID. DE SEC. NÚM.: 5 y como CDR de cadena ligera las CDR de ID. DE SEC. NÚM.: 6, como CDR de cadena pesada las CDR de ID. DE SEC. NÚM.: 7 y como CDR de cadena ligera las CDR de ID. DE SEC. NÚM.: 8.

Se pueden determinar las secuencias CDR de acuerdo con la definición estándar de Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). Las CDR de ID.

DE SEC. NÚM.: 1-8 se muestran en los ID. DE SEC. NÚM.: 9-25.

Las CDR de cada cadena están separadas por aminoácidos de armazón.

Según la invención el anticuerpo se caracteriza preferiblemente porque dicho anticuerpo se une a CCR5 y comprende una región pesada variable y una región ligera seleccionadas independientemente a partir del grupo que consiste en

a) el dominio variable de cadena pesada (V_H) definido por la secuencia de aminoácidos con ID. DE SEC. NÚM.:1 y el dominio variable de cadena ligera (V_L) definido por el ID. DE SEC. NÚM.:2;

b) el dominio variable de cadena pesada definido por la secuencia de aminoácidos con ID. DE SEC. NÚM.:3 y el dominio variable de cadena ligera definido por el ID. DE SEC. NÚM.:4;

c) el dominio variable de cadena pesada definido por la secuencia de aminoácidos con ID. DE SEC. NÚM.:5 y el dominio variable de cadena ligera definido por el ID. DE SEC. NÚM.:6;

d) el dominio variable de cadena pesada definido por la secuencia de aminoácidos con ID. DE SEC. NÚM.:7 y el dominio variable de cadena ligera definido por el ID. DE SEC. NÚM.:8;

o un fragmento de unión al CCR5 del mismo.

Según la invención, el anticuerpo se caracteriza preferentemente en que la región variable de cadena pesada consta de una secuencia de aminoácidos seleccionada independientemente de un grupo formado por los Id. de sec. núm.: 1, 3, 5 y 7.

Según la invención, el anticuerpo se caracteriza preferentemente en que la región variable de cadena ligera consta de una secuencia de aminoácidos seleccionada independientemente

de un grupo formado por los Id. de sec. núm.: 2, 4, 6, y 8.

Según la invención, el anticuerpo se caracteriza preferentemente en que las cadenas constantes son de origen humano. Dichas cadenas constantes se conocen bien en el estado de desarrollo actual del campo y están descritas por Kabat (véase por ejemplo Johnson, G., y Wu, T.T., Nucleic Acids Res. 28 (2000) 214-218). Por ejemplo, una región constante de cadena pesada humana consta de una secuencia de aminoácidos seleccionada independientemente de un grupo formado por los Id. de sec. núm.: 26 y 27. Por ejemplo, una región constante de cadena ligera humana consta de una secuencia de aminoácidos de una región constante de cadena ligera-kappa del Id. de sec. núm.: 28. Además, según Kabat (véase p. ej. Johnson, G., and Wu, T.T., Nucleic Acids Res. 28 (2000) 214-218) se prefiere que el anticuerpo sea de origen de ratón y conste de la secuencia marco variable de anticuerpo de un anticuerpo de ratón.

Los anticuerpos inhiben una o más funciones del CCR5 humano, como la unión de ligandos al CCR5, la actividad de señalización (p. ej. activación de la proteína G de los mamíferos, inducción de un aumento rápido y temporal de la concentración del Ca^{2+} libre citosólico o la estimulación de una respuesta celular (p. ej. estimulación de la quimiotaxis, la exocitosis o la liberación del mediador inflamatorio mediante leucocitos o activación de la integrina)). Los anticuerpos inhiben la unión de RANTES, MIP-1 alfa, MIP-1 beta o VIH al CCR5 humano e inhiben las funciones mediadas por el CCR5 humano, como el tráfico de leucocitos, la entrada del VIH en una célula, la

activación de las células T, la liberación del mediador inflamatorio o la degranulación de los leucocitos.

Según la invención, el anticuerpo se une específicamente al CCR5 humano e inhibe la fusión del VIH con una célula diana en un ensayo que comprende poner en contacto el virus, en presencia de dicha célula diana, con el anticuerpo en una concentración efectiva para inhibir la fusión de la membrana entre el virus y dicha célula con un valor IC_{50} de 4,0 $\mu\text{g/ml}$ o inferior.

Según la invención el anticuerpo se une específicamente al CCR5 e inhibe la fusión de la membrana entre una primera célula que co-expresa CCR5 y los polipéptidos CD4 y una segunda célula que expresa una proteína env del VIH con un valor IC_{50} de 1,5 $\mu\text{g/ml}$ o inferior, preferentemente 0,3 $\mu\text{g/ml}$ o inferior.

Según la invención, preferentemente un anticuerpo no inhibe la unión de las quimiocinas en un ensayo de unión a CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR6 y CXCR4 en una concentración de anticuerpos de hasta 100 $\mu\text{g/ml}$.

Según la invención, preferentemente un anticuerpo no estimula el aumento de Ca^{2+} intracelular, detectado en las células CHO que expresan CCR5 y Galfa16 en una concentración de anticuerpos de hasta 50 $\mu\text{g/ml}$.

Según la invención, el anticuerpo es preferentemente del isotipo humano IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, siendo preferidos IgG1 o IgG4.

Según la invención, el anticuerpo es preferentemente un isotipo IgG4, preferentemente con una mutación S228P adicional o es preferentemente del isotipo IgG1, modificado en la región

bisagra a unos 220-240 aa entre CH1 y CH2 (Angal, S., et al., Mol. Immunol. 30 (1993) 105-108) o la segunda región interdominio de unos 330 aa entre CH2 y CH3 (numeración de acuerdo con Kabat, véase p. ej. Johnson, G., and Wu, T.T., Nucleic Acids Res. 28 (2000) 214-218). Dicha modificación evita la función del efector (ADCC y/o CDC). El cambio de clase a IgG se puede realizar mediante el intercambio de las cadenas pesadas y ligeras constantes del anticuerpo con las de un anticuerpo de la clase deseada, como los mutantes IgG1 o un IgG4. Estos métodos se conocen bien en los últimos avances del campo.

Según la invención, el anticuerpo se caracteriza preferentemente por ser de la subclase humana IgG1 y estar formado por lo menos por una mutación en L234 (leucina en la posición del aminoácido 234), L235, D270, N297, E318, K320, K322, P331 o P329 (numeración de acuerdo con el índice EU). Preferentemente el anticuerpo es del tipo IgG1 humano formado por mutaciones L234A (alanina en lugar de leucina en la posición del aminoácido 234) y L235A.

Por lo tanto la invención se refiere preferentemente a los anticuerpos caracterizados por unirse al CCR5, que contienen una parte Fc de origen humano y no se unen al factor del complemento humano C1q y/o activan el C3. Preferentemente los anticuerpos no se unen, como mínimo, a un receptor Fcγ humano.

La invención además proporciona unas líneas celulares de hibridomas que producen anticuerpos monoclonales de acuerdo con la invención. Las líneas celulares de hibridomas preferidas, según la invención, se depositaron en Deutsche Sammlung

von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ),
Alemania. Los anticuerpos que se pueden obtener de dichas líneas celulares son realizaciones preferidas de la invención.

Otra realización de la invención es un anticuerpo que se une a CCR5, con la característica de que es producido por la línea celular m<CCR5>Pz01.F3, m<CCR5>Pz04.1F6, m<CCR5>Pz03.1C5 o m<CCR5>Pz02.1C11. Las secuencias de los polinucleótidos que contienen estos materiales depositados, además de las secuencias de aminoácidos de los polipéptidos codificados por esta, prevalecen en caso de conflicto con las secuencias descritas en el protocolo de secuencia.

Según la invención el anticuerpo se une al CCR5 humano en competencia con un anticuerpo de una línea celular seleccionada del grupo formado por los anticuerpos desde el A hasta el E.

La invención además consta de una molécula de ácido nucleico que codifica una cadena de anticuerpos, una cadena variable o un dominio CDR de la misma de acuerdo con la invención.

La invención además proporciona vectores de expresión que contienen dichos ácidos nucleicos, y las células hospederas que constan de dichos vectores para la producción recombinante de dicho anticuerpo capaz de expresar dicho ácido nucleico en una célula hospedera procariótica o eucariótica.

La invención además consta de una célula hospedera procariótica o eucariótica que contiene un vector, de acuerdo con la invención.

La invención además consta de un método para la producción

de un anticuerpo humano recombinante de acuerdo con la invención, que se caracteriza por expresar un ácido nucleico de acuerdo con la invención en una célula hospedera procariótica o eucariótica y por recuperar dicho anticuerpo de dicha célula. La invención además consta de un anticuerpo que se puede obtener con tal método recombinante.

Los anticuerpos según la invención muestran beneficios para los pacientes con necesidad de un tratamiento dirigido a CCR5. Los anticuerpos según la invención tiene unas propiedades nuevas e ingeniosas que causan un beneficio para el paciente que padece tal enfermedad, especialmente los pacientes con inmunosupresión o pacientes con infección por el VIH.

La invención además proporciona un método para tratar un paciente que padece inmunosupresión, especialmente que tiene la infección del VIH, que consta de la administración a un paciente diagnosticado con dicha enfermedad (y por lo tanto con la necesidad de dicho tratamiento) de una cantidad eficaz de un anticuerpo de unión al CCR5 de acuerdo con la invención. Preferentemente, el anticuerpo se administra en una composición farmacéutica.

La invención además consta del uso de un anticuerpo de acuerdo con la invención para el tratamiento de un paciente que padece inmunosupresión y para fabricar una composición farmacéutica de acuerdo con la invención. Además, la invención consta de un método para la fabricación de una composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

La invención además consta de una composición farmacéutica formada por un anticuerpo de acuerdo con la invención en una

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

La invención además proporciona composiciones farmacéuticas que constan de dichos anticuerpos en un portador farmacéuticamente aceptable. En una realización, la composición farmacéutica se puede incluir en un artículo de fabricación o un equipo.

Descripción detallada de la invención

El término «anticuerpo» abarca las formas varias de estructuras de anticuerpos incluyendo, sin limitarse a anticuerpos completos, fragmentos de anticuerpos. Según la invención el anticuerpo es preferentemente un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico o un futuro anticuerpo producido genéticamente mientras las propiedades características de acuerdo con la invención se mantengan.

Los «fragmentos de anticuerpos» abarcan una porción de un anticuerpo completo, preferentemente su región variable o como mínimo la porción de unión al antígeno del mismo. Algunos ejemplos de fragmentos de anticuerpos son: diacuerpos, moléculas de anticuerpos de cadena única, inmunotoxinas y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de los fragmentos de anticuerpos. Además, los fragmentos de anticuerpos abarcan polipéptidos de una sola cadena con las características de una cadena V_H , concretamente con la capacidad de ensamblarse con una cadena V_L , o de una cadena V_L de unión a CCR5, concretamente con la capacidad de ensamblarse con una cadena V_H a una bolsa de unión de antígenos funcional con lo que proporciona la pro-

piedad de inhibir la fusión de la membrana o la fusión del VIH con una célula diana.

Los términos «anticuerpo monoclonal» o «composición de anticuerpos monoclonales», tal y como se usan aquí, se refieren a una preparación de moléculas de anticuerpos de una sola composición de aminoácidos. El término «anticuerpo quimérico» se refiere a un anticuerpo monoclonal formado por una región variable, es decir, una región de unión, de ratón y, como mínimo, una porción de una región constante derivada de una fuente o especie diferentes, normalmente preparada mediante técnicas de DNA. Los anticuerpos quiméricos formados por una región variable de ratón y una región constante humana son especialmente preferidos. Dichos anticuerpos de ratón/humanos quiméricos son el producto de la expresión de genes de inmunoglobulina que están formados por segmentos de DNA que codifican regiones variables de inmunoglobulina de ratón y segmentos de DNA que codifican regiones constantes de inmunoglobulina humanas. Otras formas de «anticuerpos quiméricos» que abarca la presente invención son esas en las que la clase o subclase se ha modificado o cambiado respecto a la del anticuerpo original. Dichos anticuerpos «quiméricos» también se denominan «anticuerpos de clase cambiada». Los métodos para producir anticuerpos quiméricos implican DNA recombinante convencional y técnicas de transfección de genes conocidas en el campo. Véase, p. ej. Morrison, S.L., et al., Proc. Natl. Acad Sci. EEUU 81 (1984) 6851-6855; Patentes Estadounidenses números 5.202.238 y 5.204.244.

El término «anticuerpo humanizado» se refiere a los anti-

cuerpos en los que el armazón o las «regiones determinantes de complementariedad» (CDR) han sido modificadas para comprender las CDR de una inmunoglobulina con una especificidad diferente comparada a la de la inmunoglobulina original. En una realización preferida, una CDR de ratón se injerta en la región de armazón de un anticuerpo humano para preparar el «anticuerpo humanizado». Véase, por ejemplo, Riechmann, L., et al., Nature 332 (1988) 323-327; y Neuberger, M.S., et al., Nature 314 (1985) 268-270. Las CDR particularmente preferidas corresponden a las que representan secuencias que reconocen los antígenos arriba mencionados para los anticuerpos quiméricos y bifuncionales.

El término «unión a CCR5» tal y como se usa aquí significa la unión de un anticuerpo al CCR5 en un ensayo ELISA *in vitro* sobre células (células CHO de expresión de CCR5). La unión se puede encontrar si el anticuerpo causa una proporción S/R (señal/ruido) de 5 o más en una concentración de anticuerpos de 100 ng/ml.

Un anticuerpo de acuerdo con la invención muestra una unión al mismo epítipo de CCR5 tal y como lo hace un anticuerpo seleccionado de un grupo formado por los anticuerpos desde el A hasta el E, o bien ambos ven inhibida su unión al CCR5 debido a un impedimento estérico de la misma. La unión del epítipo se investiga mediante el uso de una mutación de alanina de acuerdo con el método descrito por Olson, W.C. et al., J. Virol. 73 (1999) 4145-4155 para el mapeo de epítopos. Una reducción de señal del 75 % o más muestra que el aminoácido(s) mutado forma parte del epítipo de dicho anticuerpo. La unión

al mismo epítipo se puede encontrar si los aminoácidos que forman parte del epítipo del anticuerpo investigado y los aminoácidos que forman parte del epítipo del anticuerpo A, B, C, D o E son idénticos.

El anticuerpo C, que muestra valores de IC_{50} inferiores que el anticuerpo 2D7 en los ensayos con el VIH, se une a un epítipo incluyendo los aminoácidos en el dominio ECL2 del CCR5 (Lee, B., et al., J. Biol. Chem. 274 (1999) 9617-9626), que es diferente del epítipo reconocido por el anticuerpo 2D7 (2D7 se une a los aminoácidos K171 y E172 de ECL2A, pero no a los aminoácidos de ECL2B, 184-189). La unión del epítipo para el anticuerpo C es de un 20 % para el mutante K171A o E172A de CCR5 (si glu 172 es mutado a ala). El 100 % de la unión del epítipo se define para el CCR5 de tipo salvaje. Otra realización de la invención es, por lo tanto, un anticuerpo que se une a CCR5 en el mismo epítipo en el que se une el anticuerpo C.

El término «estructura molecular de siete quimiocinas transmembrana» tal como se utiliza aquí se refiere a la estructura natural que presenta el CCR5 cuando está situado en la bicapa de la membrana celular (véase por ejemplo Oppermann, M., Cell. Sig. 16 (2004) 1201-1210). Del mismo modo que otros receptores acoplados a proteína G 1b, el CCR5 está formado por un dominio extracelular N-terminal, un dominio transmembrana y un dominio citoplasmático C-terminal. El dominio transmembrana está constituido por siete segmentos transmembrana hidrofóbicos unidos por tres segmentos citoplasmáticos y tres extracelulares. Según la invención el anticuerpo se une al CCR5 en su estructura molecular de siete quimiocinas transmembrana.

El término «epítopo» significa un determinante proteico con capacidad de unión específica a un anticuerpo. Los epítomos normalmente constan de unas agrupaciones de superficie químicamente activas de moléculas como aminoácidos o cadenas laterales glucídicas, y suelen presentar unas características estructurales tridimensionales y unas de carga específicas. La diferencia entre los epítomos conformacionales y los no conformacionales radica en que en presencia de disolventes desnaturalizantes se pierde la unión a los primeros pero no a los segundos. Preferiblemente un anticuerpo según la invención se une de manera específica a un CCR5 nativo pero no a uno desnaturalizado. Un anticuerpo de este tipo comprende preferiblemente una CDR3 de cadena pesada de ID. DE SEC. NÚM.:17, y además preferiblemente las CDR de cadena pesada con ID. DE SEC. NÚM.:10, 11, 12, 14 y/o 15. Preferiblemente dicho anticuerpo es un anticuerpo B, C, D o E, o comprende las regiones variables del anticuerpo B, C, D o E. Preferiblemente un anticuerpo de unión al CCR5 desnaturalizado es el anticuerpo A o comprende las regiones variables del anticuerpo A.

El término «fusión de membranas» se refiere a la fusión entre una primera célula que coexpresa los polipéptidos CCR5 y CD4 y una segunda célula que expresa una proteína env del VIH. La fusión de membranas se determina mediante un ensayo con el gen indicador de luciferasa.

El término «inhibición de la fusión del VIH con una célula diana» se refiere a la inhibición de la fusión del VIH con una célula diana medida en un ensayo en el que, en presencia de la célula diana, se pone en contacto el virus con el anticuerpo

en una concentración suficientemente efectiva como para inhibir la fusión de membranas entre el virus y dicha célula y en el que se mide la actividad del gen indicador de luciferasa.

El término «molécula de ácido nucleico», tal como aquí se emplea, debe incluir moléculas de DNA y de RNA. Una molécula de ácido nucleico puede ser de cadena única o doble, pero es preferiblemente de doble cadena.

La «región variable» (región variable de una cadena ligera (V_L), región variable de una cadena pesada (V_H)), tal como aquí se emplea, denota cada uno de los pares de cadenas ligeras y pesadas que interviene directamente en la unión del anticuerpo con el antígeno. Los dominios de cadenas variables pesadas y ligeras tienen la misma estructura general y cada dominio consta de cuatro regiones de armazón (FR, siglas en inglés de framework regions), cuyas secuencias están ampliamente conservadas, que están conectadas por tres «regiones hipervariables» (o regiones determinantes de complementariedad, CDR). Las regiones de armazón adoptan una conformación en lámina β y las CDR pueden formar asas de conexión con la estructura de lámina β . Las CDR de cada cadena se mantienen en su estructura tridimensional gracias a las regiones de armazón y, junto a las CDR de la otra cadena, forman el sitio de unión al antígeno o parátipo. Las regiones CDR3 de cadena ligera y pesada desempeñan un papel particularmente importante en la especificidad/afinidad de unión de los anticuerpos según la invención y de esta manera proporcionan otro objeto de la invención.

Los términos «región hipervariable» o «porción de unión al

antígeno de un anticuerpo» en este texto se refieren a los residuos de aminoácidos de un anticuerpo que son responsables de la unión antigénica. La región hipervariable contiene residuos de aminoácidos de las «regiones determinantes de complementariedad» o «CDR». Las regiones de armazón o FR son aquellas regiones de dominio variable diferentes de los residuos de región hipervariable aquí definidos. Por lo tanto, las cadenas variables pesadas y ligeras de un anticuerpo comprenden los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, y FR4, desde el extremo N-terminal hasta el C-terminal. La CDR3 de la cadena pesada es especialmente la región que más contribuye a la unión antigénica y define al anticuerpo. Según la invención el anticuerpo está caracterizado por comprender en su región variable de cadena pesada la secuencia CDR3 con ID. DE SEC. NÚM.:16 o ID. DE SEC. NÚM.:17. Las regiones CDR y FR se determinan según la definición estándar de Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991) y/o según aquellos residuos de un «asa hipervariable».

Los términos «ácido nucleico» o «molécula de ácido nucleico», tal como aquí se emplean, deben incluir moléculas de DNA y moléculas de RNA. Una molécula de ácido nucleico puede ser de cadena única o doble, pero es preferible la de doble cadena.

Un ácido nucleico está «unido funcionalmente» cuando se encuentra en una relación funcional con otra secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, el DNA de una pre-secuencia o una secuencia guía está unido funcionalmente a un DNA de un poli-

péptido si se expresa como una preproteína que participa en la secreción del polipéptido; un promotor o intensificador está unido funcionalmente a una secuencia codificadora si afecta a la transcripción de la secuencia; o un sitio de unión ribosómico está unido funcionalmente a una secuencia codificadora si está situado de manera que facilite la traducción. En general, «unido funcionalmente» significa que las secuencias de DNA que están unidas son colineales y, en el caso de una secuencia guía, contiguas y en marco de lectura. Sin embargo, los intensificadores no tienen que ser contiguos. La unión se consigue mediante el ligamiento en los sitios de restricción convenientes. Si estos sitios no existen se utilizan los adaptadores de oligonucleótidos sintéticos o conectores de acuerdo con la práctica convencional.

Tal como se utilizan aquí, las expresiones «célula», «línea celular» y «cultivo celular» se emplean indistintamente y todas ellas incluyen progenie. Por lo tanto, las palabras «transformantes» y «células transformadas» incluyen la célula objeto principal y los cultivos derivados de la misma sin tener en cuenta el número de transferencias. También se entiende que toda la progenie no tiene porqué ser exactamente idéntica en cuanto al contenido de DNA debido a mutaciones intencionadas o involuntarias. Se incluye la progenie variante que presenta la misma función o actividad biológica que la que se buscaba originalmente en la célula transformada.

Los «dominios constantes» no intervienen directamente en la unión antígeno-anticuerpo, pero muestran diversas funciones efectoras. Los anticuerpos y las inmunoglobulinas, dependiendo

de la secuencia de aminoácidos de la región constante de sus cadenas pesadas, se dividen en las siguientes clases: IgA, IgD, IgE, IgG y IgM, y varias de estas pueden a su vez dividirse en subclases (isotipos), por ejemplo IgG1, IgG2, IgG3, y IgG4, IgA1 y IgA2. Las regiones constantes de la cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan α , δ , ϵ , γ y μ , respectivamente. Los anticuerpos según la invención son preferiblemente del tipo IgG.

El término «parte Fc derivada de origen humano», tal como se utiliza aquí, denota una parte Fc que es, o bien una parte Fc de un anticuerpo humano de la subclase IgG4, o bien una parte Fc de un anticuerpo humano de la subclase IgG1, IgG2 o IgG3 que está modificado de manera que no se pueda detectar ninguna unión FcR (FcγRIIIa) ni ninguna Clq definidas a continuación. Una «parte Fc de un anticuerpo» es un término bien conocido por los expertos y se define en base a la escisión de anticuerpos con papaína. Los anticuerpos según la invención contienen como parte Fc una parte Fc derivada de origen humano y, preferiblemente, el resto de partes de las regiones humanas constantes. Preferiblemente la parte Fc es una parte Fc humana y especialmente se prefiere o bien de subclase IgG4 humana o bien una parte Fc mutada de la subclase IgG1 humana. Las más preferibles son las partes Fc y las regiones constantes de cadena pesada mostradas en el ID. DE SEC. NÚM.: 26 y 27, el ID. DE SEC. NÚM.: 26 con mutaciones L234A y L235A o el ID. DE SEC. NÚM.: 27 con mutación S228P.

Mientras IgG4 muestra una unión de receptor de Fc (FcγRIIIa) reducida, los anticuerpos de otras subclases de IgG

muestran una unión fuerte. Sin embargo, Pro238, Asp265, Asp270, Asn297 (pérdida de carbohidrato de Fc), Pro329 y 234, 235, 236 y 237, Ile253, Ser254, Lys288, Thr307, Gln311, Asn434, y His435 son residuos que también proporcionan, si se alteran, una unión a FcR reducida (Shields, R.L., et al. J. Biol. Chem. 276 (2001) 6591-6604; Lund, J., et al. FASEB J. 9 (1995) 115-119; Morgan, A., et al. Immunology 86 (1995) 319-324; y EP 0307434). Preferentemente un anticuerpo, de acuerdo con la invención, está en referencia a la unión a FcR de la subclase IgG4 o de las subclases IgG1 o IgG2 con una mutación en S228, L234, L235 y/o D265, y/o contiene la mutación de PVA236. Las mutaciones de S228P, L234A, L235A, L235E y/o PVA236 son las preferidas y las mutaciones especialmente preferidas son las de IgG4 en S228P y las de IgG1 en L234A + L235A.

La parte Fc de un anticuerpo está directamente involucrada en la activación del complemento y la unión a Clq. Mientras que la influencia de un anticuerpo en el sistema de complemento depende de ciertas condiciones, la unión a Clq está causada por sitios de unión definidos en la parte Fc. Tales sitios de unión son conocidos por los expertos y están descritos por ejemplo por Lukas, T.J., et al., J. Immunol. 127 (1981) 2555-2560; Brunhouse, R., and Cebra, J.J., Mol. Immunol. 16 (1979) 907-917; Burton, D.R., et al., Nature 288 (1980) 338-344; Thommesen, J.E., et al., Mol. Immunol. 37 (2000) 995-1004; Idusogie, E.E., et al., J. Immunol. 164 (2000) 4178-4184; Hezareh, M., et al., J. Virol. 75 (2001) 12161-12168; Morgan, A., et al., Immunology 86 (1995) 319-324; y PE0307434. Dichos si-

tios de unión son, por ejemplo, L234, L235, D270, N297, E318, K320, K322, P331 y P329 (numeración según el índice EU de Kabat). Los anticuerpos de las subclases IgG1, IgG2 y IgG3 normalmente muestran activación del complemento y unión a C1q y C3, mientras que los de la IgG4 no activan el sistema de complemento ni se unen a C1q y C3.

La presente invención se refiere a un anticuerpo de unión al CCR5 que no se une al receptor de Fc o al factor del complemento C1q. El anticuerpo no conlleva citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA) o citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). Preferentemente, este anticuerpo se caracteriza por su unión al CCR5, contiene una parte Fc derivada de origen humano y no se une al receptor FC o al factor del complemento C1q. Más preferiblemente, este anticuerpo es un anticuerpo humano o humanizado, o un anticuerpo reducido de antígeno de célula T, por ejemplo según WO 98/52976 y WO 00/34317. La unión a C1q puede medirse según Idusogie, E.E., et al., J. Immunol.164 (2000) 4178-4184. No se encuentra ninguna «unión a C1q» si la DO a 492-405 nm es inferior al 15 % del valor para la unión de C1q humano en el caso del anticuerpo con una parte FC no modificada (tipo salvaje) en una concentración de anticuerpos de 8 µg/ml. La CCDA se puede medir como la unión del anticuerpo al FcγRIIIa humano sobre células NK humanas. La unión está determinada por una concentración de anticuerpos de 20 µg/ml. La «falta de unión a FcR o la falta de CCDA» significa una unión a FcγRIIIa humano sobre las células NK humanas de hasta el 30 % en una concentración de 20 µg/ml de anticuerpos, comparada con la unión del mismo anti-

cuerpo como IgG1 humano (ID. de SEC. NÚM.:26).

Los anticuerpos de acuerdo con la invención incluyen, además, los anticuerpos que tienen «modificaciones de secuencia conservadoras» (anticuerpos variables), las modificaciones de secuencias de aminoácidos que no afectan o alteran las ya mencionadas características del anticuerpo de acuerdo con la invención. Las modificaciones se pueden introducir mediante las técnicas habituales conocidas en el campo, como la mutagénesis dirigida y la mutagénesis por PCR. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras incluyen aquellas en las que el residuo de aminoácidos es sustituido por un residuo de aminoácidos que tiene una cadena lateral similar. Las familias de residuos de aminoácidos con cadenas laterales similares están definidas en el campo. Estas familias incluyen los aminoácidos con cadenas laterales básicas (p. ej. lisina, arginina, histidina), cadenas laterales acídicas (p. ej. ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (p. ej. glicina, asparragina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína, triptófano), cadenas laterales no polares (p. ej. alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina), cadenas laterales beta-ramificadas (p. ej. treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (p. ej. tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). Por lo tanto, un residuo de aminoácidos no esencial predicho de un anticuerpo anti-CCR5 humano se puede sustituir preferentemente por otro residuo de aminoácidos de la misma familia de cadena lateral. Por lo tanto, un anticuerpo anti-CCR5 «variante» aquí se refiere a una molécula cuya diferencia radica en la secuen-

cia de aminoácidos respecto a la de un anticuerpo anti-CCR5 «original» en hasta diez, preferiblemente desde unas dos a cinco, adiciones, deleciones o sustituciones en una o más regiones variables del anticuerpo original fuera de la cadena pesada CDR3. Cada una de las otras regiones CDR consta de como máximo una sola adición, eliminación o sustitución de amino. La invención consta de un método para modificar la secuencia de aminoácidos CDR de un anticuerpo original de unión al CCR5, que se caracteriza por la selección de una cadena pesada de CDR seleccionada a su vez a partir de un grupo formado por los Id. de sec. núm.: 1, 3, 5 y 7 o una cadena CDR ligera de anticuerpos seleccionada a partir de un grupo formado por los Id. de sec. núm.: 2, 4, 6 y 8, proporcionando un ácido nucleico que codifica dicha secuencia CDR de aminoácidos inicial, modificando dicho ácido nucleico en que se modifica un aminoácido de la cadena pesada de CDR1, un aminoácido de la cadena pesada de CDR2, 1 a 3 aminoácidos de la cadena ligera de CDR1, 1 a 3 aminoácidos de la cadena ligera de CDR2 o 1 a 3 aminoácidos de la cadena ligera de CDR3, expresando dicha secuencia de aminoácidos de CDR en una estructura de anticuerpo, midiendo si dicho anticuerpo se une al CCR5 y seleccionando dicha CDR modificada si el anticuerpo se une al CCR5. Preferiblemente dichas modificaciones son modificaciones de secuencia conservadoras.

Las sustituciones de aminoácidos se pueden realizar mediante mutagénesis basada en la modulación molecular tal y como se describe en Riechmann, L., et al., Nature 332 (1988) 323-327 y Queen, C., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86

(1989) 10029-10033.

Otra realización de la invención es un método para la producción de un anticuerpo anti-CCR5 que no se une al receptor de Fcγ o al Clq con la característica de que la secuencia del ácido nucleico que codifica la cadena pesada de un anticuerpo de tipo IgG1 humano de unión al CCR5 se modifica de tal modo que dicho anticuerpo modificado no se une a Clq o al receptor de Fcγ, dicho ácido nucleico y el ácido nucleico que codifica la cadena ligera de dicho anticuerpo se insertan en un vector de expresión, dicho vector se inserta en una célula hospedera eucariótica y la proteína codificada se expresa y se recupera de la célula hospedera o del sobrenadante. Preferentemente el anticuerpo se modifica mediante un «cambio de clase», es decir cambio o mutación de la parte Fc (p. ej. de IgG1 a IgG4 o la mutación IgG1/IgG4) preferiblemente definido como IgG1v1 (PVA-236; GLPSS331 tal y como especifica E233P; L234V; L235A; delta G236; A327G; A330S; P331S), IgG1v2 (L234A; L235A) y IgG4v1 (S228P; L235E) y IgG4x (S228P).

La identidad o la homología respecto a la secuencia se definen aquí como el porcentaje de residuos de aminoácidos en la secuencia candidata que son idénticos a los residuos de anticuerpos originales, después de alinear las secuencias e introducir los huecos, si es necesario, para conseguir el máximo porcentaje de identidad de la secuencia. Ninguna de las extensiones internas, N-terminales o C-terminales, deleciones o inserciones en la secuencia del anticuerpo se deben interpretar como secuencias que afectan a la identidad o la homología de la secuencia. La variante mantiene la capacidad de unirse al

CCR5 humano y, preferentemente, tiene propiedades que son superiores a las del anticuerpo original. Por ejemplo, la variante puede tener unos efectos secundarios reducidos durante el tratamiento.

Aquí el anticuerpo «original» es uno, que está codificado por una secuencia de aminoácidos utilizada para la preparación de la variante. Preferentemente, el anticuerpo original tiene una región de armazón y, si está presente, tiene una región(es) constante de anticuerpos humanos. Por ejemplo, el anticuerpo original puede ser un anticuerpo humano o humanizado.

Los anticuerpos, de acuerdo con la invención preferentemente se producen mediante métodos recombinantes. Dichos métodos son muy conocidos en el campo y comprenden la expresión proteica en células procarióticas y eucarióticas con un aislamiento posterior del polipéptido de anticuerpo, y normalmente con una purificación hasta alcanzar una pureza farmacéuticamente aceptable. Para la expresión de las proteínas se insertan ácidos nucleicos que codifican cadenas ligeras y pesadas, o fragmentos de las mismas, en vectores de expresión mediante los métodos estándar. La expresión se realiza en células hospedadoras procarióticas o eucarióticas apropiadas, como las células CHO, las células NS0, las células SP2/0, las células HEK293, las células COS, la levadura o las células de *E. coli*, y el anticuerpo se recupera a partir de las células (sobrenadante o células después de la lisis).

La producción recombinante de anticuerpos se conoce bien en el campo y está descrita, por ejemplo, en el resumen de los artículos de Makrides, S.C., *Protein Expr. Purif.* 17 (1999)

183-202; Geisse, S., et al., Protein Expr. Purif. 8 (1996) 271-282; Kaufman, R.J., Mol. Biotechnol. 16 (2000) 151-161; Werner, R.G., Drug Res. 48 (1998) 870-880.

Los anticuerpos pueden estar presentes en células enteras, en un lisado celular o en una forma parcialmente purificada o bastante pura. Se realiza la purificación para eliminar otros componentes celulares u otros contaminantes, por ejemplo otros ácidos nucleicos celulares o proteínas, mediante las técnicas estándar, incluyendo tratamiento SDS/alcalino, gradiente de CsCl, cromatografía en columna, electroforesis en gel de agarosa y otros conocidos en el campo. Véase Ausubel, F., et al., ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987).

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

Las secuencias de control que son adecuadas para los procariontes incluyen, por ejemplo, un promotor; opcionalmente una

secuencia operadora y un sitio de unión ribosómico. Se sabe que las células eucarióticas usan promotores, estimuladores y señales de poliadenilación.

Un ácido nucleico está «unido funcionalmente» cuando se encuentra situado en una relación funcional con otra secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, el DNA de una pre-secuencia o una secuencia guía está unido funcionalmente a un DNA de un polipéptido si es expresado como una preproteína que participa en la secreción del polipéptido; un promotor o intensificador está unido funcionalmente a una secuencia codificadora si afecta a la transcripción de la secuencia; o un sitio de unión ribosómico está unido funcionalmente a una secuencia codificadora si está situado de manera que facilite la traducción. En general, «unido funcionalmente» significa que las secuencias de DNA que están unidas son contiguas y, en el caso de una secuencia guía, contiguas y en marco de lectura. Sin embargo, los intensificadores no tienen que ser contiguos. La unión se consigue mediante el ligamiento en los sitios de restricción convenientes. Si estos sitios no existen se utilizan los adaptadores de oligonucleótidos sintéticos o conectores, de acuerdo con la práctica convencional.

Los anticuerpos monoclonales se separan adecuadamente del medio de cultivo mediante procedimientos convencionales de purificación de inmunoglobulinas como, por ejemplo, proteína A-sefarosa, cromatografía en hidroxilapatita, electroforesis en gel, diálisis o cromatografía de afinidad. El DNA, y RNA, que codifica los anticuerpos monoclonales se aísla y secuencia inmediatamente mediante procedimientos convencionales. Las célu-

las de hibridoma se pueden utilizar como fuente de dicho DNA y RNA. Una vez aislado, el DNA puede insertarse en vectores de expresión que entonces se transfectan en células hospederas como las células HEK 293, células CHO o células de mieloma que sin embargo no producen proteína de inmunoglobulina, para obtener la síntesis de anticuerpos monoclonales recombinantes en las células huésped.

Las variantes de secuencias de aminoácidos del anticuerpo CCR5 humano se preparan introduciendo cambios nucleotídicos apropiados en el DNA del anticuerpo o mediante síntesis peptídica. Sin embargo, estas modificaciones se pueden realizar solamente en un rango muy limitado, como se describe arriba. Por ejemplo, las modificaciones no alteran las características del anticuerpo antes mencionado como el isotipo IgG y la unión al epítipo, pero pueden mejorar el rendimiento de la producción de recombinantes, la estabilidad de las proteínas o facilitar la purificación.

Cualquier residuo de cisteína que no intervenga en el mantenimiento de la conformación correcta del anticuerpo anti-CCR5 puede también ser sustituido, generalmente por serina, para mejorar la estabilidad oxidativa de la molécula y evitar enlaces cruzados aberrantes. Por el contrario, se pueden añadir enlace(s) de cisteína al anticuerpo para mejorar su estabilidad (en particular allí donde el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo como un fragmento Fv).

Otro tipo de variante aminoacídico del anticuerpo altera el patrón de glicosilación original del anticuerpo. Por alterar se entiende delecionar una o más regiones glucídicas del

anticuerpo y/o añadir uno o más sitios de glicosilación que no están presentes en el anticuerpo. La glicosilación de anticuerpos es característicamente de unión N. Esto se refiere a la unión de la región glucídica a la cadena lateral de un residuo de asparagina. Las secuencias tripeptídicas asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, donde X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática de la región glucídica con la cadena lateral del residuo de asparagina. Por lo tanto, la presencia de cualquiera de estas secuencias tripeptídicas en un polipéptido constituye un posible sitio de glicosilación. La adición de sitios de glicosilación al anticuerpo se lleva a cabo convenientemente mediante la alteración de la secuencia de aminoácidos de manera que contenga una o más de las secuencias tripeptídicas antes descritas (para sitios de N-glicosilación).

Las moléculas de ácido nucleico que codifican las variantes de secuencia de aminoácidos del anticuerpo anti-CCR5 se preparan según una serie de diferentes métodos conocidos. Estos métodos incluyen, aunque no exclusivamente, el aislamiento a partir de una fuente natural (en el caso de variantes de secuencia aminoacídica que se producen de forma natural) o la preparación mediante mutagénesis mediada por oligonucleótidos (dirigida), mutagénesis por PCR y mutagénesis por inserción de un casete de una variante preparada anteriormente o una versión no variante del anticuerpo anti-CCR5 humanizado.

Otro tipo de modificación covalente implica el acoplamiento químico o enzimático de glicósidos al anticuerpo. Estos

procedimientos representan una ventaja en cuanto a que no requieren la producción del anticuerpo en una célula hospedera que tenga capacidad de realizar N- o O-glicosilación. Dependiendo del modo de acoplamiento utilizado los glúcidos pueden estar unidos a (a) arginina y histidina, (b) grupos carboxilo libres, (c) grupos sulfhidrilo libres como los de cisteína, (d) grupos hidroxilo libres como los de serina, treonina o hidroxiprolina, (e) residuos aromáticos como los de fenilalanina, tirosina o triptófano, o (f) el grupo amida de la glutamina. Estos métodos se describen en WO 87/05330, y en Aplin, J.D., and Wriston, J.C. Jr., CRC Crit. Rev. Biochem. 4 (1981) 259-306.

La eliminación de cualquier región glucídica presente en el anticuerpo puede llevarse a cabo química o enzimáticamente. La deglicosilación química requiere la exposición del anticuerpo al ácido trifluorometasulfónico o a un compuesto equivalente. Este tratamiento provoca el anclaje de todos o casi todos los glúcidos excepto el azúcar enlazante (N-acetilglucosamina o N-acetilgalactosamina), mientras que el anticuerpo permanece intacto. La deglicosilación química está descrita por Sojahn, H.T., and Bahl, O.P., Arch. Biochem. Biophys. 259 (1987) 52-57 y por Edge, A.S., et al. Anal. Biochem. 118 (1981) 131-137. El anclaje enzimático de las regiones glucídicas en anticuerpos se puede conseguir utilizando una variedad de endo- y exo-glicosidasas como se describe en Thotakura, N.R., and Bahl, O.P., Meth. Enzymol. 138 (1987) 350-359.

Otro tipo de modificación covalente del anticuerpo com-

prende la unión del anticuerpo a uno de varios polímeros no proteínicos; por ejemplo polietilenglicol, propilenglicol o polioxialquilenos; en la forma expuesta en las patentes estadounidenses núm. 4.640.835; 4.496.689; 4.301.144; 4.670.417; 4.791.192 o 4.179.337.

Las regiones variables de cadena pesada y ligera reconstruidas se combinan con secuencias de promotor, iniciación de traducción, región constante, 3' no traducida, poliadenilación y terminación de transcripción para formar constructos de vectores de expresión. Los constructos de expresión de cadena pesada y ligera se pueden combinar en un único vector cotransfectado, transfectado serialmente o transfectado separadamente en células hospederas que entonces se fusionan para formar una única célula hospedera que expresa ambas cadenas.

La invención además consta del uso de un anticuerpo según la invención para el diagnóstico *in vitro* de la vulnerabilidad al SIDA, preferiblemente mediante un ensayo inmunológico de determinación de la unión entre el CCR5 soluble de una muestra de plasma humano (Tsimanis T., Immunology Letters 96 (2005) 55-61) y el anticuerpo según la invención. La expresión del CCR5 presenta una correlación con la progresión de la enfermedad y puede utilizarse para identificar individuos con alto o bajo riesgo en cuanto a la vulnerabilidad al SIDA. Los anticuerpos o los fragmentos de unión antigénica se pueden marcar o no, con finalidad diagnóstica. Normalmente los ensayos diagnósticos conllevan la detección de la formación de un complejo resultante de la unión de un anticuerpo o un fragmento con el CCR5.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición, por ejemplo una composición farmacéutica, que contiene un anticuerpo monoclonal (o una combinación de ellos), o la porción de unión antigénica del mismo, de la presente invención, formulada junto con un portador farmacéuticamente aceptable.

Tal como se emplea aquí, «portador farmacéuticamente aceptable » incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, coberturas, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y similares que son compatibles fisiológicamente. Preferiblemente, el portador es apropiado para inyección o infusión.

Una composición de la presente invención se puede administrar según una variedad de métodos conocidos. La ruta y/o modo de administración variará dependiendo de los resultados deseados, como comprenderá un experto en la materia.

Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen soluciones acuosas estériles o dispersiones y polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles o dispersión. El uso de estos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es muy conocido. Además de agua, el portador puede ser, por ejemplo, una solución salina tamponada isotónica.

Sin tener en cuenta la ruta de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención, que pueden utilizarse en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante métodos

convencionales conocidos por los expertos.

Los niveles de dosis actuales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden variarse para obtener una cantidad de ingrediente activo que sea efectiva para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un paciente, una composición o un modo de administración en particular, sin ser tóxico para el paciente. El nivel de dosis seleccionado dependerá de una variedad de factores farmacocinéticos: la actividad de las composiciones de la presente invención en particular empleadas, o el éster, la sal o la amida de las mismas, la ruta de administración, el momento de administración, la tasa de excreción del compuesto en particular empleado, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con las composiciones en particular empleadas, la edad, el sexo, el peso, la condición, la salud general y los antecedentes del paciente tratado, y factores similares ampliamente conocidos en la medicina.

La invención comprende el uso de los anticuerpos según la misma para el tratamiento de un paciente afectado por inmunosupresión (como en el caso de inmunosupresión en un paciente con síndromes de inmunodeficiencia como el SIDA), un paciente bajo tratamiento con radiación, quimioterapia, tratamiento para enfermedades autoinmunes u otros tratamientos farmacológicos (por ejemplo tratamiento con corticosteroides), que causa inmunosupresión, GvHD o HvGD (por ejemplo después de un trasplante). La invención también comprende un método para el tratamiento de un paciente que sufre de dicha inmunosupresión.

Además la invención también proporciona un método para la

fabricación de una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva de un anticuerpo según la invención junto con un portador farmacéuticamente aceptable y el uso del anticuerpo según la invención para un método como este.

La invención también proporciona el uso de un anticuerpo según la invención en una cantidad efectiva para la fabricación de un agente farmacéutico. Preferiblemente junto con un portador aceptable farmacéuticamente, para el tratamiento de un paciente con inmunosupresión.

Los siguientes ejemplos, referencias y listado de secuencias se proporcionan para ayudar en la comprensión de la presente invención, el verdadero alcance de la misma se expone en las reivindicaciones adjuntas. Se entiende que se pueden hacer modificaciones en los procedimientos expuestos sin alejarse del espíritu de la invención.

Depósito de anticuerpos

Línea celular	Depósito núm.	Fecha del depósito
m<CCR5>Pz01.F3	DSM ACC 2681	18.08.2004
m<CCR5>Pz02.1C11	DSM ACC 2682	18.08.2004
m<CCR5>Pz03.1C5	DSM ACC 2683	18.08.2004
m<CCR5>Pz04.1F6	DSM ACC 2684	18.08.2004

Descripción de las secuencias

ID. DE SEC. NÚM.: 1 <CCR5>Pz01.F3 cadena pesada, dominio variable

ID. DE SEC. NÚM.: 2 <CCR5>Pz01.F3 cadena ligera, dominio variable

ID. DE SEC. NÚM.: 3 <CCR5>Pz02.1C11 cadena pesada, dominio variable

ID. DE SEC. NÚM.: 4	<CCR5>Pz02.1C11	cadena ligera, dominio variable
ID. DE SEC. NÚM.: 5	<CCR5>Pz03.1C5	cadena pesada, dominio variable
ID. DE SEC. NÚM.: 6	<CCR5>Pz03.1C5	cadena ligera, dominio variable
ID. DE SEC. NÚM.: 7	<CCR5>F3.1H12.2E5	cadena pesada, dominio variable
ID. DE SEC. NÚM.: 8	<CCR5>F3.1H12.2E5	cadena ligera, dominio variable
ID. DE SEC. NÚM.: 9		Cadena pesada CDR1
ID. DE SEC. NÚM.:10		Cadena pesada CDR1
ID. DE SEC. NÚM.:11		Cadena pesada CDR1
ID. DE SEC. NÚM.:12		Cadena pesada CDR1
ID. DE SEC. NÚM.:13		Cadena pesada CDR2
ID. DE SEC. NÚM.:14		Cadena pesada CDR2
ID. DE SEC. NÚM.:15		Cadena pesada CDR2
ID. DE SEC. NÚM.:16		Cadena pesada CDR3
ID. DE SEC. NÚM.:17		Cadena pesada CDR3
ID. DE SEC. NÚM.:18		Cadena ligera CDR1
ID. DE SEC. NÚM.:19		Cadena ligera CDR1
ID. DE SEC. NÚM.:20		Cadena ligera CDR1
ID. DE SEC. NÚM.:21		Cadena ligera CDR2
ID. DE SEC. NÚM.:22		Cadena ligera CDR2
ID. DE SEC. NÚM.:23		Cadena ligera CDR2
ID. DE SEC. NÚM.:24		Cadena ligera CDR3
ID. DE SEC. NÚM.:25		Cadena ligera CDR3
ID. DE SEC. NÚM.:26		región constante de cadena pesada

γ1

ID. DE SEC. NÚM.:27 región constante de cadena pesada

γ4

ID. DE SEC. NÚM.:28 región constante de cadena ligera

K

Nomenclatura de los anticuerpos

<CCR5>Pz01.F3: Anticuerpo A ID. DE SEC. NÚM.: 1, 2

<CCR5>Pz02.1C11: Anticuerpo B ID. DE SEC. NÚM.: 3, 4

<CCR5>Pz03.1C5 : Anticuerpo C ID. DE SEC. NÚM.: 5, 6

<CCR5>F3.1H12.2E5: Anticuerpo D ID. DE SEC. NÚM.: 7, 8

<CCR5>Pz04.1F6: Anticuerpo E

Descripción de la figuras

Fig. 1: ensayo de fusión de CCR5, comparación de 2D7 y del anticuerpo B

Fig. 2: ELISA de células de CCR5, comparación de 2D7 y de los anticuerpos B y C

Ejemplo 1

Producción de anticuerpos monoclonales para el CCR5 humano

a) Inmunización de ratones

Los ratones hembra Balb/c reciben una inmunización intra-peritoneal primaria con 10^7 de células de expresión de CCR5 (CHO o L1.2) junto con un adyuvante CFA (adyuvante completo de Freund). Después reciben otra inmunización intraperitoneal al cabo de 4 a 6 semanas otra vez con las mismas 10^7 células de expresión de CCR5 junto con IFA (adyuvante incompleto de Freund). A partir de entonces a cada ratón se le administra otra vez una cantidad de 10^7 células de expresión de CCR5 (CHO o L1.2) en PBS en intervalos de 4 a 6 semanas. Después, las

últimas inmunizaciones se llevan a cabo intraperitonealmente con otra vez 10^7 células de expresión de CCR5 utilizando 2×10^6 células de expresión de CCR5 en el tercer o cuarto día antes de la fusión.

b) Fusión y clonaje

Las células de bazo de los ratones inmunizados según a) se fusionan con células de mieloma de acuerdo con Galfré, Methods in Enzymology 73, 1981, 3. Alrededor de 1×10^8 de células de bazo del ratón inmunizado se mezclan con más o menos la misma cantidad de células de mieloma (P3X63-Ag8-653, ATCC CRL 1580), después fusionadas y cultivadas en un medio HAZ (100 mmol/l de hipoxantina, 1 μ g/ml de azaserina en RPMI 1640 + 10 % FCS). Después de ca. 10 días se comprueban los cultivos primarios para la producción específica de anticuerpos. Los cultivos primarios que presentan una reacción positiva con el CCR5 en la ELISA celular y una reacción no cruzada con células parentales no transfectadas, se clonan en placas de cultivos celulares de 96 pocillos mediante la limitación de la dilución o mediante el clasificador celular activado por fluorescencia. Las líneas celulares depositadas se obtuvieron de este modo.

c) Producción recombinante de anticuerpos

Los vectores para la expresión de un anticuerpo quimérico, formados por regiones constantes de humano enlazadas a regiones variables de murino, se pueden construir de la siguiente manera: dos vectores de expresión de cadena pesada quiméricos se construyen constando del VH de ratón anti-CCR5 enlazado a la IgG1 humana y a las regiones constantes de IgG4 humana en el vector de expresión pSVgpt. Un vector de cadena ligera

quimérico se construye constando del VK de ratón anti-CCR5 enlazado a la Kappa C humana en el vector de expresión pSVhyg. La secuencia flanqueadora 5 incluyendo el péptido señal líder, el intrón líder y el promotor de inmunoglobulina murina; y la secuencia flanqueadora 3 incluyendo el sitio de empalme y la secuencia intrón se introduce utilizando los vectores VH-PCR1 y VK-PCR1 como patrones. Los vectores de cadena pesada se cotransfectan dentro de las NS0 (ECACC núm. 85110503, un mieloma de ratón no productor de inmunoglobulina). Los clones celulares transfectados se criban para la producción de un anticuerpo humano mediante ELISA para la IgG humana.

Ejemplo 2

Construcción de plasmidios de expresión para los mutantes (variantes) anti-CCR5 IgG1 y IgG4

Los plasmidios de expresión que codifican los mutantes anti-CCR5 $\gamma 1$ - y $\gamma 4$ - de cadena pesadas se pueden crear mediante mutagénesis dirigida de los plasmidios de expresión de tipo salvaje utilizando el equipo de mutagénesis dirigida Quick-Change™ (Stratagene) y están descritos en la tabla 1. Los aminoácidos están numerados según la numeración EU [Edelman, G.M., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU 63 (1969) 78-85; Kabat, E.A., et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Ed., NIH Publication No. 91-3242 (1991)].

Tabla 1:

Isotipo	Abreviatura	Mutaciones	Descripción
IgG1	IgG1v1	PVA-236; GLPSS331	La secuencia de aminoácidos Glu ₂₃₃ Leu ₂₃₄ Leu ₂₃₅ Gly ₂₃₆

Isotipo	Abreviatura	Mutaciones	Descripción
		tal y como especifica E233P; L234V; L235A; del- ta G236; A327G; A330S; P331S	de la cadena pesada- $\gamma 1$ es sustituida por la se- cuencia de aminoácidos Pro ₂₃₃ Val ₂₃₄ Ala ₂₃₅ de la ca- dena pesada- $\gamma 2$ humana. La secuencia de aminoáci- dos Ala ₃₂₇ Leu ₃₂₈ Pro ₃₂₉ Ala ₃₃₀ Pro ₃₃₁ de la cadena pesada- $\gamma 1$ humana es sustituida por la secuencia de aminoáci- dos Gly ₃₂₇ Leu ₃₂₈ Pro ₃₂₉ Ser ₃₃₀ Ser ₃₃₁ de la cadena pesada- $\gamma 4$ humana
IgG1	IgG1v2	L234A; L235A	La secuencia de aminoáci- dos Leu ₂₃₄ Leu ₂₃₅ de la cadena pesada- $\gamma 1$ humana es sustituida por la se- cuencia de aminoácidos Ala ₂₃₄ Ala ₂₃₅
IgG4	IgG4v1	S228P; L235E	Ser ₂₂₈ de la cadena pesa- da- $\gamma 4$ humana es susti- tuido por Pro ₂₂₈ y Leu ₂₃₅ de la cadena pesada - $\gamma 4$ humana es sustituido por Glu ₂₃₅

Isotipo	Abreviatura	Mutaciones	Descripción
IgG4	IgG4x	S228P	Ser ₂₂₈ de la cadena pesada- γ 4 humana es sustituido por Pro ₂₂₈

Explicación de las mutaciones: S228P significa que la serina en la posición 228 del aminoácido Kabat se cambia a prolina.

Ejemplo 3

Ensayo de fusión célula a célula

El día 1, las células HeLa que expresan gp160 (2×10^4 células/50 μ l/pocillo) se siembran en una placa de microvaloración blanca de 96 pocillos de un medio DMEM complementado con un 10 % de FCS y 2 μ g/ml de doxiciclina. El día 2, 100 μ l de muestra sobrenadante o control de anticuerpos por pocillo se añaden en una placa de microvaloración transparente de 96 pocillos. Entonces 100 μ l con 8×10^4 de células de suspensión CEM-NKr-Luc en un medio se añaden e incuban durante 30 minutos a 37 °C. El medio de cultivo celular Hela se aspira de la placa de 96 pocillos, 100 μ l de los 200 μ l de una mezcla de anticuerpos/CEM-NKr-Luc se añaden e incuban durante la noche a 37 °C. El día 3, 100 μ l/pocillo del substrato de ensayo de Bright-Glo™ Luciferase (1,4-ditiotreitol y ditionito sódico; Promega Corp. USA) se añaden y se mide la luminiscencia después de una incubación mínima de 15 minutos a temperatura ambiente.

Materiales:

Las células Hela-R5-16 (línea celular para expresar el gp160 de VIH bajo inducción de doxiciclina) se cultivan en un

medio DMEM formado por nutrientes y un 10 % de FCS con 400 µg/ml de G418 y 200 µg/ml de Higromicin B.

La CEM.NKR-CCR5-Luc (Catálogo número: 5198) es una línea de célula T disponible en NIH AIDS Research & Reference Reagent Program McKesson BioServices Corporation Germantown, MD 20874, EEUU. El tipo de célula: CEM.NKR-CCR5 (Cat. Núm. 4376) se transfectó (electroporación) para expresar el gen luciferasa bajo el control transcripcional del VIH-2 LTR y se propagó en RPMI 1640 formado por un 10 % de suero bovino fetal, 4 mM de glutamina, penicilina/estreptomicina y 0.8 mg/ml de sulfato de geneticina (G418). Características de crecimiento: Células linfoides redondas, la morfología no es muy variable. Las células crecen en suspensión como células solas, las cuales pueden formar aglutinaciones pequeñas. División 1:10 dos veces a la semana. Características especiales: expresar la actividad de la luciferasa después de la transactivación del VIH-2 LTR. Adecuada para la infección con aislados del VIH, para los ensayos de neutralización y sensibilidad del fármaco (Spencehauer, C., et al., Virology 280 (2001) 292-300; Trkola, A., et al., J. Virol. 73 (1999) 8966-8974). La línea celular se obtuvo a través del NIH AIDS Research and Reference Reagent Program, NIAID, NIH de los doctores John Moore y Catherine Spencehauer.

Tampón de ensayo de Bright-Glo™ Luciferase (Promega Corp. EEUU, parte núm. E2264B)

Substrato de ensayo de Bright-Glo™ Luciferase (Promega Corp. EEUU, parte núm. EE26B)

Resultados:

Los resultados para el anticuerpo B se muestran en la figura 1.

Los valores de IC_{50} son 0,38 $\mu\text{g/ml}$ para el anticuerpo C, 0,79 $\mu\text{g/ml}$ para el anticuerpo B y 7,0 $\mu\text{g/ml}$ para el anticuerpo A. Los valores de IC_{50} también, por ejemplo, se miden en el ensayo PhenoSenseHIV (ViroLogic, Inc. EEUU) utilizando la cepa JRCSF. Los valores de IC_{50} son 0,16 $\mu\text{g/ml}$ para el anticuerpo C, 0,17 $\mu\text{g/ml}$ para el anticuerpo B, 0,82 $\mu\text{g/ml}$ para el anticuerpo A y 1,4 $\mu\text{g/ml}$ para el anticuerpo 2D7.

Ejemplo 4

Ensayo antivírico con virus vivos

Las PBMC se preparan a partir de una capa de leucocitos aislada mediante una centrifugación en gradiente de densidad utilizando Lymphoprep™ (Nycomed Pharma AG, Oslo, Noruega). Las células de cuatro donantes diferentes se mezclaron, se estimularon durante un día con PHA y a continuación se cultivaron en un medio RPMI formado por un 1 % de penicilina/estreptomicina, un 1 % de glutamax, un 1 % de piruvato sódico, un 1 % de aminoácidos no esenciales y un 10 % de FBS, durante dos días en presencia de 5 U/ml IL-2.

100.000 PBMC en 50 μl se añaden a 100 μl de una solución de anticuerpos (dilución seriada con un alcance de entre 0,006 a 17,5 $\mu\text{g/ml}$, en un medio de RPMI complementario e infectada con 250 $TCID_{50}$ de NLBal (cepa de NL4.3 (Adachi, A., et al., J. Virol. 59 (1986) 284-291) con el entorno de BaL (gp120)) o alternativamente JRCSF (O'Brien, W.A., et al., Nature 348 (1990) 69-73) en un volumen de 50 μl . La mezcla se incuba durante seis días a 37 °C en una incubadora de CO_2 . El sobrenadante se

cosechó y a continuación se diluyó 1:50 con 5 U/ml de un medio RPMI complementado con IL-2.

La medición de p24 se realiza en una prueba de ELISA p24 VIH-1 (Perkin-Elmer, EEUU). Entonces las muestras se neutralizan y se transfieren a los pocillos de microplacas que se recubren con un anticuerpo monoclonal de ratón altamente específico a VIH-1 p24. El anticuerpo monoclonal inmovilizado captura el VIH-1 p24. Las muestras de cultivos celulares no necesitan una interrupción y se añaden directamente a los pocillos de microplacas recubiertos con anticuerpos monoclonales. El antígeno capturado se acompleja con un anticuerpo policlonal biotinilado al VIH-1 p24, seguido por un conjugado de HRP de estreptavidina (peroxidasa de wasabi). El complejo resultante se detecta mediante la incubación con orto-fenilenediamina-HCl (OPD) que produce un color amarillo que es directamente proporcional a la cantidad de VIH-1 p24 capturado. La absorbancia de cada pocillo de microplaca se determina usando un lector de microplaca y calibrado contra la absorbancia un estándar de antígeno de VIH-1 p24 o una curva estándar. Los resultados se muestran en la tabla 2.

Tabla 2: Inhibición del crecimiento del VIH en las PBMC

humanas

Anticuerpo	IC50 [μ g/ml]	
	JRCSF	N1-Bal
2D7	0.271	0.076
A	0.016	0.045
B	0.025	0.025
C	0.013	0.029

Ejemplo 5

ELISA de célula CCR5

20.000 células CHO que expresan de forma recombinante el CCR5 se cultivan en una placa de 96 pocillos y se incuban durante la noche a 37 °C. A partir de entonces se aspira el medio y se añaden 40 µl de medio fresco. Se añaden 10 µl de anticuerpos diluidos en un medio y se incuban durante 2 horas a 4 °C. Se aspira el medio, se añaden 100 µl de Glutardialdehído (c = 0.05 % en PBS) y se incuban durante 10 minutos a temperatura ambiente. Después de lavar 3x con 200 µl de PBS, se añaden 50 µl de anticuerpos de detección 1 (1.000 diluidos en un bloqueo de ELISA) y se incuban durante 2 horas a temperatura ambiente. Se añaden 50 µl de 3,3',5,5'-Tetrametilbencidina (TMB) y se para la reacción después de 7 minutos. La densidad óptica se mide a 450 nm (contra 620 nm).

Primer anticuerpo: Pharmingen 2D7 (CD 195; Cat. Núm. 555990) o anticuerpo B/C

Segundo anticuerpo: Anticuerpo de detección (conjugado de anticuerpo contra IgG murina y POD; Biorad, núm. 170-6516, 1:1000 diluido)

Medio: F-12 de HAM o GIBCO con Glutamax, 10 % de FCS, 200 µg/ml de Higromicina (Roche Diagnostics GmbH, DE)

Bloqueo de ELISA: Roche Diagnostics GmbH, DE núm. 1112589, 10 %(v/v) de solución en agua, 1/10 diluido en PBS.

TMB: Roche Diagnostics GmbH, DE núm. 1432559, solución para utilizar.

Los resultados se muestran en la Fig. 2.

Ejemplo 6

93

Potencial de los Mabs de CCR5 para unirse a FcγRIIIa en las células NK

Para determinar la capacidad de los anticuerpos de la invención para unirse a FcγRIIIa (CD16) en las células asesinas naturales (NK), las células mononucleares sanguíneas periféricas (PBMC) se aíslan e incuban con 20 µg/ml de anticuerpos y anticuerpos control en presencia o ausencia de 20 µg/ml de un anticuerpo de ratón de bloqueo a FcγRIIIa (anti-CD16, clon 3G8, RDI, Flanders, NJ), para verificar la unión vía FcγRIIIa. Como controles negativos se usa la IgG2 y la IgG4 humanas (El centro de unión), que no se unen a FcγRIIIa. La IgG1 y la IgG3 humanas (El centro de unión) están incluidas como controles positivos para la unión de FcγRIIIa. Los anticuerpos unidos en células NK se detectan mediante el análisis FACS utilizando un anticuerpo (BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA) CD56 anti-humano de ratón etiquetado PE (marcador de la superficie de las células NK) en combinación con un anticuerpo (Protos Immunoresearch, Burlingame, CA) de IgG (Fc) anti-humana F(ab)₂ de cabra etiquetado FITC. La unión máxima (U_{max}) se determina en una concentración de anticuerpos de 20 µg/ml. El anticuerpo de control (IgG4 humana) muestra hasta un 30 % de U_{max} comparada al 100 % de U_{max} para la IgG1 humana. Por lo tanto "la no unión de FcγRIIIa o no ADCC" significa en una concentración de anticuerpos de 20 µg/ml un valor de U_{max} de hasta el 30 % comparado a la IgG1 humana.

Lista de referencias

- Adachi, A., et al., J. Virol. 59 (1986) 284-291
- Angal, S., et al., Mol. Immunol. 30 (1993) 105-108
- Aplin, J.D., and Wriston, J.C. Jr., CRC Crit. Rev. Biochem. 4 (1981) 259-306
- Ausubel, F., et al., ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)
- Barnes, L.M., et al., Biotech. Bioeng. 73 (2001) 261-270
- Barnes, L.M., et al., Cytotechnology 32 (2000) 109-123
- Berger, E.A., AIDS 11 (Suppl. A) (1997) S3-S16
- Bieniasz, P.D., and Cullen, B.R., Frontiers in Bioscience 3 (1998) 44-58
- Brunhouse, R., and Cebra, J.J., Mol. Immunol. 16 (1979) 907-917
- Burton, D.R., et al., Nature 288 (1980) 338-344
- Carter, P., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89 (1992) 4285-4289
- Cocchi, F., et al., Science 270 (1995) 1811-1815
- Dean, M., et al., Science 273 (1996) 1856-1862
- Durocher, Y., et al., Nucl. Acids. Res. 30 (2002) E9
- Edelman, G.M., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 63 (1969) 78-85
- Edge, A.S., et al., Anal. Biochem. 118 (1981) 131-137
- PE 1 144 006
- PE 1 161 456
- PE 1 207 202
- PE 1 263 791
- PE 1 322 332

05

PE 0 307 434

- Geisse, S., et al., Protein Expr. Purif. 8 (1996) 271-282
- Hezareh, M., et al., J. Virol. 75 (2001) 12161-12168
- Idusogie, E.E., et al., J. Immunol. 164 (2000) 4178-4184
- Johnson, G., and Wu, T.T., Nucleic Acids Res. 28 (2000) 214-218
- Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, NIH Publication No. 91-3242 (1991)
- Kaufman, R.J., Mol. Biotechnol. 16 (2000) 151-161
- Kazmierski, W.M., et al., Curr. Drug Targets Infect. Disord. 2 (2002) 265-278
- Kilby, J.M., and Eron, J.J., N. Engl. J. Med. 348 (2003) 2228-2238
- Lazzarin, A., et al., N. Engl. J. Med. 348 (2003) 2186-2195
- Lee, B., et al., J. Biol. Chem. 274 (1999) 9617-9626
- Lehner, T., Trends Immunol. 23 (2002) 347-351
- Littman, D.R., Cell 93 (1998) 677-680
- Lukas, T.J., et al., J. Immunol. 127 (1981) 2555-2560
- Lund, J., et al. FASEB J. 9 (1995) 115-119
- Makrides, S.C., Protein Expr. Purif. 17 (1999) 183-202
- Morgan, A., et al., Immunology 86 (1995) 319-324
- Morrison, S.L., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81 (1984) 6851-6855
- Mueller, A., and Strange, P.G., Int. J. Biochem. Cell Biol. 36 (2004) 35-38
- Neuberger, M.S., et al., Nature 314 (1985) 268-270
- Norderhaug, L., et al., J. Immunol. Methods 204 (1997) 77-87

- O'Brien, W.A., et al., Nature 348 (1990) 69-73
- Olson, W.C., et al., J. Virol. 73 (1999) 4145-4155
- Oppermann, M., Cell. Sig. 16 (2004) 1201-1210
- Orlandi, R., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86 (1989) 3833-3837
- Pierson, T.C., and Doms, R.W., Immuno. Lett. 85 (2003) 113-118
- Queen, C., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86 (1989) 10029-10033
- Riechmann, L., et al., Nature 332 (1988) 323-327
- Rossi, D., and Zlotnik, A., Annu. Rev. Immunol. 18 (2000) 217-243
- Samson, M., et al., J. Biol. Chem 272 (1997) 24934-24941
- Samson, M., et al., Nature 382 (1996) 722-725
- Schlaeger, E.-J., and Christensen, K., Cytotechnology 30 (1999) 71-83
- Schlaeger, E.-J., J. Immunol. Methods 194 (1996) 191-199
- Schols, D., Curr. Top. Med. Chem. 4 (2004) 883-893
- Schwarz, M.K., and Wells, T.N., Nat. Rev. Drug Discov. 1 (2002) 347-358
- Shields, R.L., et al. J. Biol. Chem. 276 (2001) 6591-6604
- Sojahn, H.T., and Bahl, O.P., Arch. Biochem. Biophys. 259 (1987) 52-57
- Spenlehauer, C., et al., Virology 280 (2001) 292-300
- Thommesen, J.E., et al., Mol. Immunol. 37 (2000) 995-1004
- Thotakura, N.R., and Bahl, O.P., Meth. Enzymol. 138 (1987) 350-359
- Trkola, A., et al., J. Virol. 73 (1999) 8966-8974
- Tsimanis T., Immunology Letters 96 (2005) 55-61

US 2001/0000241
US 2002/0048786
US 2002/0061834
US 2002/0106374
US 2002/0146415
US 2002/0147147
US 2003/0003440
US 2003/0044411
US 2003/0049251
US 2003/0099645
US 2003/0100058
US 2003/0152913
US 2003/0165988
US 2003/0166024
US 2003/0166870
US 2003/0195348
US 2003/0228306
US 2004/0043033
US 4,179,337
US 4,301,144
US 4,496,689
US 4,640,835
US 4,670,417
US 4,791,192
US 5,202,238
US 5,204,244
US 6,528,625
US 6,610,834

Werner, R.G., Drug Res. 48 (1998) 870-880

WO 00/34317

WO 01/42308

WO 01/43779

WO 01/58915

WO 01/58916

WO 02/22077

WO 2002/083172

WO 2003/033666

WO 2003/066830

WO 2003/072766

WO 87/05330

WO 98/52976

CAPITULO REIVINDICATORIO PRESENTADO EN FASE NACIONAL

REIVINDICACIONES DE LA PATENTE

1. Anticuerpo que se une al CCR5 que se caracteriza en que la secuencia de aminoácidos CDR3 de cadena pesada variable de dicho anticuerpo se selecciona de un grupo formado por las secuencias CDR3 de cadena pesada con la ID. DE SEC. NÚM.: 16 o 17.

2. Anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza por constar de una región ligera y pesada variable independientemente seleccionada de

a) el dominio variable (VH) de cadena pesada definido por una secuencia de aminoácidos ID. DE SEC. NÚM.: 1 y el dominio variable (VH) de cadena ligera definido por el ID. DE SEC. NÚM.: 2;

b) el dominio variable de cadena pesada definido por la secuencia de aminoácidos ID. DE SEC. NÚM.: 3 y el dominio variable de cadena ligera definido por el ID. DE SEC. NÚM.:4;

c) el dominio variable de cadena pesada definido por la secuencia de aminoácidos ID. DE SEC. NÚM.: 5 y el dominio variable de cadena ligera definido por el ID. DE SEC. NÚM.: 6;

d) el dominio variable de cadena pesada definido por la secuencia de aminoácidos ID. DE SEC. NÚM.: 7 y el dominio variable de cadena ligera definido por el ID. DE SEC. NÚM.: 8;

o un fragmento de unión del CCR5 del mismo.

3. Anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado en que dicho anticuerpo se produce mediante las

líneas celulares de hibridoma m<CCR5>Pz01.F3,
m<CCR5>Pz04.1F6, m<CCR5>Pz03.1C5 o m<CCR5>Pz02.1C11.

4. Anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones de la 1 a la 3, caracterizado en que dicho anticuerpo es de isotipo IgG4 humano o es de isotipo IgG1 humano, dicha IgG1 es opcionalmente modificada en la región bisagra a aa 220 a 240 entre CH1 y CH2 y/o la segunda región del inter-domino del aa 330 entre CH2 y CH3.

5. Las líneas celulares de hibridoma m<CCR5>Pz01.F3, m<CCR5>Pz04.1F6, m<CCR5>Pz03.1C5 o m<CCR5>Pz02.1C11.

6. Una composición farmacéutica formada por un anticuerpo según las reivindicaciones de la 1 a la 4 en una cantidad efectiva farmacéuticamente.

7. El uso de un anticuerpo según las reivindicaciones de la 1 a la 4 para la fabricación de una composición farmacéutica.

8. Método para la fabricación de una composición farmacéutica formada por una cantidad eficaz farmacéuticamente de un anticuerpo según las reivindicaciones de la 1 a la 4.

9. Un ácido nucleico que codifica un polipéptido capaz de ensamblarse junto con la otra cadena de anticuerpos respectiva definida abajo, mientras dicho polipéptido es cualquiera de

a) una cadena pesada de anticuerpos que consta de, como secuencias CDR, la CDR1, CDR2 y CDR3 y siendo la CDR1 seleccionada de un grupo formado por los Id. de sec. núm.: 9, 10, 11, 12; siendo la CDR2 seleccionada de un grupo formado por los Id. de sec. núm.: 13, 14, 15; y siendo la CDR3 seleccio-

nada de un grupo formado por los Id. de sec. núm.: 16, 17.

b) una cadena ligera variable de cadena ligera de anticuerpo que consta de, como secuencias CDR, la CDR1, CDR2 y CDR3, y la CDR1 es seleccionada de los Id. de sec. núm.: 18, 19, 20; la CDR2 es seleccionada de los Id. de sec. núm.: 21, 22, 23 y la CDR3 es seleccionada de los Id. de sec. núm.: 24, 25,

donde dichas CDR se seleccionan independientemente de cada una.

10. Método para el tratamiento de un paciente que padece una enfermedad inmunosupresora, que se caracteriza por la administración al paciente de una cantidad eficaz terapéuticamente de un anticuerpo según las reivindicaciones de la 1 a la 4.

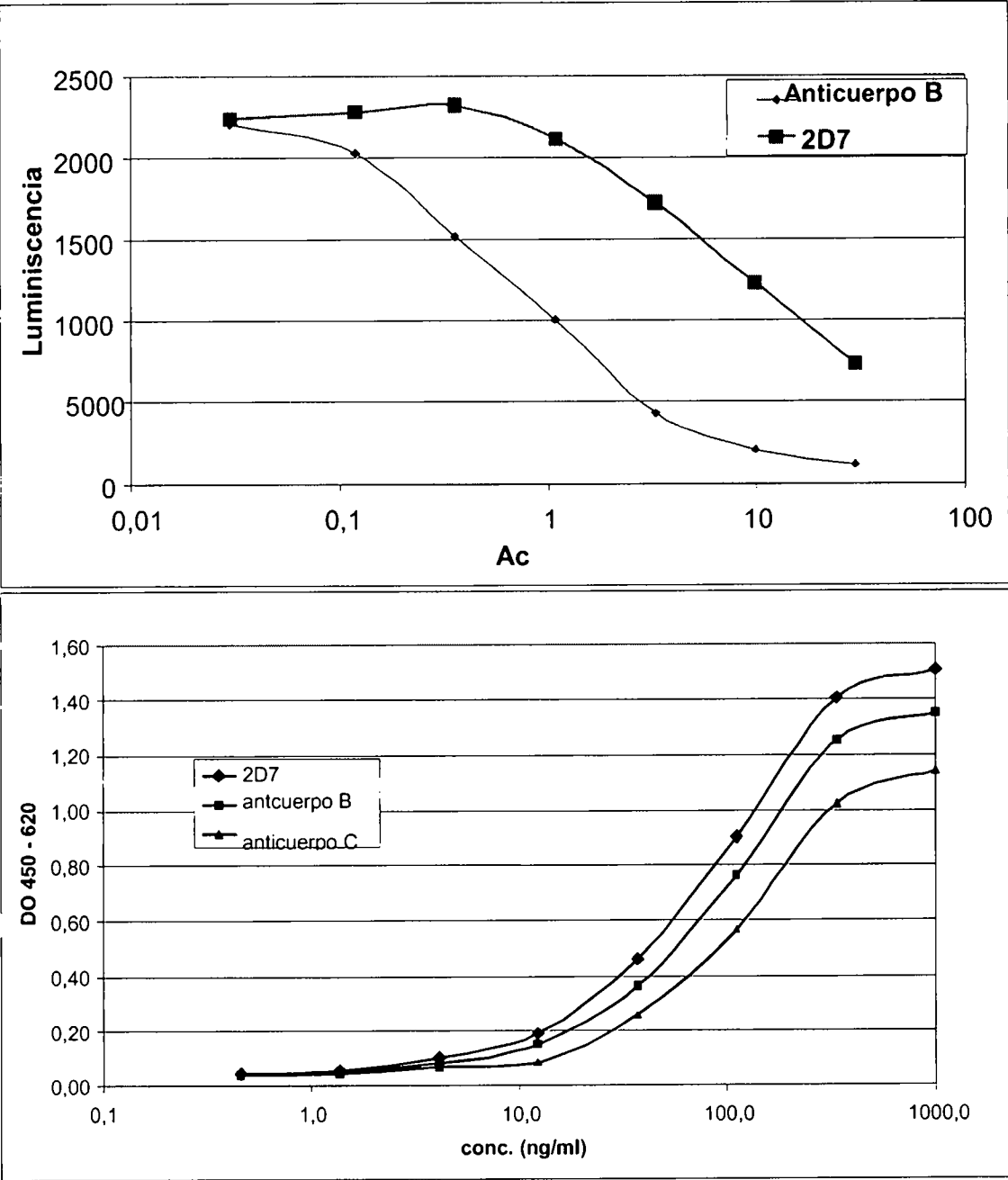
11. Un método de modificación de la secuencia CDR de un anticuerpo parental que se une a CCR5, que se caracteriza por la selección de una CDR de cadena pesada seleccionada del grupo formado por los Id. de sec. núm.: 1, 3, 5 y 7 y/o una CDR de cadena ligera de anticuerpos seleccionada del grupo formado por la Id. de sec. núm.: 2, 4, 6 y 8, proporcionando un ácido nucleico que codifica dicha secuencia CDR de aminoácidos, modificando dicho ácido nucleico en que un aminoácido es modificado de la CDR1 de cadena pesada, un aminoácido es modificado de la CDR2 de cadena pesada, 1 a 3 aminoácidos son modificados de la CDR1 de cadena ligera, 1 a 3 aminoácidos son modificados de la CDR2 de cadena ligera, y/o de 1 a 3 aminoácidos son modificados de la CDR3 de cadena ligera, expresando dicha secuencia de aminoácidos CDR en una estructura de anticuerpo,

midiendo si dicho anticuerpo se une al CCR5 y seleccionando dicha CDR modificada si el anticuerpo se une al CCR5.

12. Método para la producción de un anticuerpo que se une al CCR5 que no une el receptor Fcγ y/o Clq que se caracteriza en que la secuencia de un ácido nucleico que codifica la cadena pesada de un anticuerpo del tipo de IgG1 humana que se une al CCR5 se modifica de tal modo que dicho anticuerpo modificado no une al Clq y/o al receptor Fcγ, dicho ácido nucleico modificado y el ácido nucleico que codifica la cadena ligera de dicho anticuerpo se insertan en un vector de expresión, dicho vector se inserta en una célula hospedera eucariótica, la proteína codificada se expresa y se recupera de la célula hospedera o del sobrenadante.

13. Anticuerpo que se une al CCR5 que no une al receptor Fcγ y/o al Clq que se caracteriza en que dicho anticuerpo es del tipo de IgG1 humana.

Fig. 1



LISTADO DE SECUENCIAS

<110> F. Hoffmann-La Roche AG
<120> Anticuerpos anti-CCR5 y usos de los mismos
<130> 23010
<150> PE 05007138.0
<151> 2004-04-01
<160> 28
<170> PatentIn versión 3.2
<210> 1
<211> 119
<212> PRT
<213> ratón
<400> 1
Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ser Ile Ser Thr Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Arg
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Ile Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys Thr
85 90 95
Arg Gly Arg Gly Asp Arg Gly Asp Leu Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 2

<211> 114

<212> PRT

<213> ratón

<400> 2

Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Arg

20 25 30

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

35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Thr Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Thr Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys Arg

<210> 3

<211> 117

<212> PRT

<213> ratón

<400> 3

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln

1 5 10 15

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

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

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

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

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

Lys Val Asn Leu Ala Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
100 105 110

Val Ile Val Ser Ser
115

<210> 4

<211> 108

<212> PRT

<213> ratón

<400> 4

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 Arg Ser Ser Gly Asn Ile His Gly Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45

Tyr Asn Thr Lys Ala Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50

55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Asn Leu Gln Pro

65

70

75

80

Glu Asp Phe Gly Ile Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Asp Leu Pro Arg

85

90

95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100

105

<210> 5

<211> 117

<212> PRT

<213> ratón

<400> 5

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln

1

5

10

15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Pro Leu Gly Ile Phe

20

25

30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35

40

45

Gly Val Ile Trp Lys Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met

50

55

60

Ser Arg Leu Arg Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe

65

70

75

80

Arg Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala

85

90

95

Lys Val Asn Leu Ala Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100

105

110

Val Ile Val Ser Ser

115

<210> 6

<211> 108

<212> PRT

<213> ratón

<400> 6

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 Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Gly Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val

35 40 45

Tyr Asn Thr Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Asp Leu Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 7

<211> 117

<212> PRT

<213> ratón

<400> 7

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Pro Leu Gly Thr Phe

20

25

30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35

40

45

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met

50

55

60

Ser Arg Leu Arg Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe

65

70

75

80

Arg Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala

85

90

95

Lys Val Asn Leu Ala Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100

105

110

Val Ile Val Ser Ser

115

<210> 8

<211> 108

<212> PRT

<213> ratón

<400> 8

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 Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Gly Tyr

20

25

30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val

35

40

45

Tyr Asn Thr Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro

65

70 75

80

Glu Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Asp Leu Pro Arg

85

90

95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100

105

<210> 9

<211> 5

<212> PRT

<213> ratón

<400> 9

Thr Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> ratón

<400> 10

Val Phe Gly Val His

1 5

<210> 11

<211> 5

<212> PRT

<213> ratón

<400> 11

Ile Phe Gly Val His

1 5

<210> 12

<211> 5

<212> PRT

<213> ratón

<400> 12

Thr Phe Gly Val His

1 5

<210> 13

<211> 16

<212> PRT

<213> ratón

<400> 13

Ser Ile Ser Thr Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Arg Gly

1 5 10 15

<210> 14

<211> 16

<212> PRT

<213> ratón

<400> 14

Val Ile Trp Lys Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met Ser

1 5 10 15

<210> 15

<211> 16

<212> PRT

<213> ratón

<400> 15

Val Ile Trp Arg Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met Ser

1 5 10 15

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> ratón

<400> 16

Gly Arg Gly Asp Arg Gly Asp Leu Phe Gly Tyr

1 5 10

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> ratón

<400> 17

Val Asn Leu Ala Asp Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 18

<211> 17

<212> PRT

<213> ratón

<400> 18

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Arg Gly Asn Gln Met Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> ratón

<400> 19

Arg Ser Ser Gly Asn Ile His Gly Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> ratón

<400> 20

Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Gly Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> ratón

<400> 21

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> ratón

<400> 22

Asn Thr Lys Ala Leu Ala Glu

1 5

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> ratón

<400> 23

Asn Thr Lys Thr Leu Ala Glu

1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> ratón

<400> 24

Gln Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Arg Thr

1 5

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> ratón

<400> 25

Gln His His Tyr Asp Leu Pro Arg Thr

1 5

<210> 26

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

116

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330
<210> 27
<211> 327
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 27
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130

135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145

150

155

160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe

165

170

175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180

185

190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

195

200

205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210

215

220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

225

230

235

240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245

250

255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260

265

270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275

280

285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

290

295

300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305

310

315

320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 28

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

TRADUCCIÓN OFICIAL

DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLÉS

CONTRATO DE TRASPASO DE INVENCION

Legalización de un contrato de traspaso de la invención **"ANTICUERPOS ANTI-CCR5 Y USOS DE LOS MISMOS"** a **F. HOFFMANN – LA ROCHE AG**, documento escrito en inglés.

(firmas: ilegibles) de Michael Brandt, Suryanarayana Sankuratri, Ralf Schumacher y Stefan Seeber, inventores y cedentes.

Certificados Notariales de Basilea, Suiza, y del Condado de Santa Clara, Estado de California, EEUU, documentos escritos en inglés, y de Weilheim en OB, Alemania, documento escrito en alemán.

Apostilla de la Cancillería de Estado del Cantón de Basilea-Ciudad, documento también escrito en inglés.

EJECUCIÓN

Certificado Verificado y Autenticado
en la ciudad de Basilea, Suiza
este día 22 de mayo de 2006
(firma: Dr. Peter Kuster)

Abogado y Notario
en la ciudad de Weilheim en OB, Alemania
los días 14 y 20 de febrero de 2006
(firma: Nikolaus Klöcker)

Notario
en el Condado de Santa Clara, California, EEUU
este día 13 de abril de 2006
(firma: Julie A. Dalla)
Notaria Pública

Esta traducción se realizó a solicitud del interesado a los 18 días del mes de septiembre de 2007.

G. A. Forster

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

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

-- 0 --

Colombia

Caso 23010

Declaración

Yo, el, suscrito Notario público de Basilea/Suiza, por este medio declaro que el documento al respaldo más arriba titulado 'Traspaso' es una copia auténtica del documento original que me ha sido presentado por

F. Hoffmann-La Roche AG

de Basilea/Suiza.

Basilea/Suiza, este 22-05-2006 (vigésimo segundo día de mayo de dos mil seis)

(fdo.) Dr. Peter Kuster, Notario, con aposición de su sello oficial redondo en altorrelieve

Dr. Peter Kuster, Abogado y Notario, Peterskirchplatz 12, Apartado Aéreo CH-4001 Basilea

Registrado en el protocolo de 2006 bajo el número 227

-- 0 --

APOSTILLA

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

1. País: Suiza
- Este documento público
2. está firmado por el Dr. (en derecho) P. Kuster
3. en su calidad de Notario Público
4. se halla provisto con sello/timbre del notario en Basilea

Certificado

5. en Basilea
6. el 23 de mayo de 2006
7. por la Cancillería de Estado del Cantón de Basilea-Ciudad
8. bajo el número 4'75918'281
9. Sello/timbre
10. Firma
- (fdo.) ilegible
- Heidi Fischer

Con aposición del sello redondo oficial de la Cancillería de Estado del Cantón de Basilea-Ciudad.

-- 0 --

Traspaso

NOSOTROS, los suscritos

Michael **Brandt**, químico, un ciudadano alemán

Faltergatter 29 D-82393 Iffeldorf, Alemania

Suryanarayana **Sankuratri**, bioquímico

1097 Avondale Street, San Jose, CA 95129, EEUU

Ralf **Schumacher**, biólogo, un ciudadano alemán

Hochfeldstrasse 78, D-82377 Penzberg, Alemania

Stefan **Seeber**, biólogo, un ciudadano alemán

Breunetsrieder Weg 22, D-82377 Penzberg, Alemania

CEDENTES, declaramos por este medio que somos los inventores conjuntos de la invención titulada:

Anticuerpos Anti-CCR5 y usos de los mismos

para la cual la primera solicitud fue radicada como sigue:

País

Fecha de radicación

Número de serial

Europa

01.04.2005

05007138.0

y que, a cambio de una contraprestación apropiada y de valor cierto, cuyo recibo y suficiencia se reconoce por este medio, NOSOTROS hemos vendido, cedido y traspasado todos los derechos y título sobre y de dicha invención y de dicha(s) solicitud(es) en todos los países del mundo a la CESIONARIA:

F. Hoffmann-La Roche AG

Grenzacherstrasse 124,

CH-4070 Basilea (Suiza)

El presente traspaso es para, pero no está limitado a, los siguientes países:

Argentina, Australia, Austria, Bélgica, Brasil, Canadá, Chile, Colombia, República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Irlanda, Israel, Italia, Japón, Kazajstán, Corea, Luxemburgo, México, Mónaco, Países Bajos, Nueva Zelanda, Noruega, Pakistán, República Popular China, Filipinas, Polonia, Portugal, Rusia, Arabia Saudita, Sudáfrica, España, Suecia, Suiza, Taiwán, Turquía, Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte, Ucrania, Uruguay, Estados Unidos de América, Venezuela.

En virtud de este traspaso, dicha CESIONARIA tiene pleno derecho de solicitar y obtener en su propio nombre o en cualquier otro nombre y para sus propios

propósitos y cuenta PATENTE DE PRIVILEGIO en todo el mundo, especialmente en los países mencionados más arriba, y para reivindicar por ello el derecho de prioridad de la(s) primera(s) solicitudes radicada(s) en los países mencionados más arriba de acuerdo con las convenciones internacionales.

Se requiere legalización

Firmado en

el

(fdo.) ilegible	Michael Brandt	Penzberg, 14 de febrero de 2006
(fdo.) ilegible	Ralf Schumacher	Penzberg, 14 de febrero de 2006
(fdo.) ilegible	Stefan Seeber	Penzberg, 20 de febrero de 2006

Firmado en San Mateo, EEUU

el 13 de abril de 2006

(fdo.) ilegible Suryanarayana Sankuratri

-- 0 --

Registro notarial No. K 254 / 2006

del 14 de febrero de 2006 / li

Yo autentico las firmas antecedentes, otorgadas ante mí de

Señor Dr. Michael Brandt, nacido el 20 de marzo de 1949,

Químico, Faltergatter 29, 82393 Iffeldorf,

identificado mediante documento oficial de identidad con fotografía,

Señor Dr. Ralf Werner Franz Schumacher, nacido el 12 de febrero de 1963,

Biólogo, Hochfeldstrasse 78, 82377 Penzberg,

identificado mediante documento oficial de identidad con fotografía.

Penzberg, 14 de febrero de 2006

(fdo). ilegible.

Nikolaus Klöcker,

Notario en Weilheim en OB

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

-- 0 --

Registro notarial No. K 295 / 2006

del 20 de febrero de 2006 / li

Yo autentico la firma antecedente, otorgada ante mí de

Señor Dr. Stefan Seeber, nacido el 22 de septiembre de 1960, Biólogo Titulado,

Breunetsrieder Weg 22, 82377 Penzberg,

identificado mediante documento oficial de identidad con fotografía.

Penzberg, 20 de febrero de 2006

(fdo). ilegible.

Nikolaus Klöcker,

Notario en Weilheim en OB

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

-- 0 --

CALIFORNIA – RECONOCIMIENTO PARA TODOS LOS PROPÓSITOS

Estado de California)
) ss.
Condado de Santa Clara)

El 13 de abril de 2006 ante mí, Julie A. Dalla, Notaria Pública, compareció personalmente Suryanarayana Sankuratri, quien me demostró sobre la base de evidencia satisfactoria ser la persona cuyo nombre aparece suscrito en el instrumento adjunto y reconoció ante mí que él otorgó el mismo en su condición autorizada y que mediante su firma en el instrumento la persona o la entidad en cuyo nombre actuó la persona, otorgó el instrumento.

EN FE DE LO CUAL firmo y estampo mi sello oficial.

(fdo.) *Julie A. Dalla* **Sello oficial: JULIE A. DALLA**

Notaria Pública

Nombramiento # 1503939

Notaria Pública – California

Condado de Santa Clara

Mi Nombramiento Vence Jul. 27, 2008

- - 0 - -

Declaration

I, the undersigned Notary public of Basle/Switzerland, herewith declare that the annexed copy entitled 'Assignment' is a true copy of the original document which has been presented to me by

F. Hoffmann-La Roche AG

of Basle/Switzerland.

Basle/Switzerland, this 22-05-2006 (twenty-second day of May two thousand and six)

Dr. P. Kuster
NKH

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

LAO P. NO. 227

APOSTILLE

(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz/Suisse)

This official document

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

3. in his/her function as *Advokat und Notar*

4. and certified by the seal of the *Basle/Switzerland*

Certified

23. Mai 2006

6. on

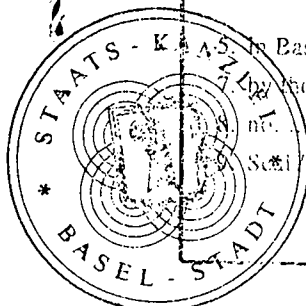
by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt

no. *4705/8'81*

Seal stamp:

10. Signature:

Heidi Fischer
Heidi Fischer



Assignment

I/WE, the undersigned

Michael Brandt, chemist, a German citizen
Faltergatter 29, D-82393 Iffeldorf, Germany

Suryanarayana Sankuratri, biochemist,
~~719 31st Avenue, San Mateo, CA 94403, USA~~ 1097 Avondale Street, San Jose, CA 95129, USA

Ralf Schumacher, biologist, a German citizen
Hochfeldstrasse 78, D-82377 Penzberg, Germany

Stefan Seeber, biologist, a German citizen
Breunetsrieder Weg 22, D-82377 Penzberg, Germany

ASSIGNOR(S), herewith declare that I am/we are the sole/joint inventor(s) of the invention entitled:

Antibodies against CCR5 and uses thereof

for which the first application(s) was (were) filed as follows:

<u>Country</u>	<u>Filing date</u>	<u>Serial No.</u>
Europe	01.04.2005	05007138.0

and that for good and valuable consideration, the receipt and sufficiency of which is hereby acknowledged, I/WE have sold, assigned and transferred all rights and title to and from the said invention and from the said application(s) in all countries of the world to the ASSIGNEE:

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

The present assignment is for, but is not limited to the following countries:

Argentina, Australia, Austria, Belgium, Brazil, Canada, Chile, Colombia, Czech Republic, Denmark, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Ireland, Israel, Italy, Japan, Kazakhstan, Korea, Luxembourg, Mexico, Monaco, Netherlands, New Zealand, Norway, Pakistan, People's Republic of China, Philippines, Poland, Portugal, Russia, Saudi Arabia, South Africa, Spain, Sweden, Switzerland, Taiwan, Turkey, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland, Ukraine, Uruguay, U.S.A., Venezuela.

By virtue of this assignment the said ASSIGNEE is fully entitled to apply for and obtain in their own name or in any other name and for their own purposes and account LETTERS PATENT in the whole world, especially in the above-named countries, and to claim therefor the right of priority of the first filed application(s) in the above-named country (countries) in accordance with international conventions.

Notarization required

Signed at
on

Michael Brandt Michael Brandt

Penzberg, February 14th, 2006

Ralf Schumacher Ralf Schumacher

Penzberg, February 14th, 2006

Stefan Seeber Stefan Seeber

Penzberg, February 20th, 2006

Signed at Say Natero, USA.
on 2006.

Suryanarayana Sankuratri Suryanarayana Sankuratri
April 13,

URNr. **K 254** / 2006

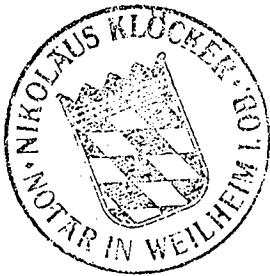
vom 14. Februar 2006 / li

Ich beglaube die vorstehenden, vor mir vollzogenen Unterschriften von

Herrn Dr. Michael Brandt, geboren am 20. März 1949,
Chemiker, Faltergatter 29, 82393 Iffeldorf,
ausgewiesen durch amtlichen Lichtbildausweis, und

Herrn Dr. Ralf Werner Franz Schumacher, geboren am 12. Februar 1963,
Biologe, Hochfeldstraße 78, 82377 Penzberg,
ausgewiesen durch amtlichen Lichtbildausweis.

Penzberg, 14. Februar 2006



Nikolaus Klöcker,
Notar in Weilheim i. OB.

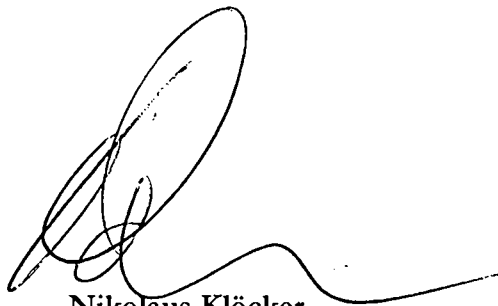
URNr. **K 295** / 2006

vom 20. Februar 2006 / li

Ich beglaubige die vorstehende, vor mir vollzogene Unterschrift von

Herrn Dr. Stefan Seeber, geboren am 22. September 1960, Dipl. Biologe,
Breunetsrieder Weg 22, 82377 Penzberg,
ausgewiesen durch amtlichen Lichtbildausweis.

Penzberg, 20. Februar 2006

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized 'N' followed by a long horizontal stroke.

Nikolaus Klöcker,

Notar in Weilheim i. OB.

CALIFORNIA ALL-PURPOSE ACKNOWLEDGEMENT

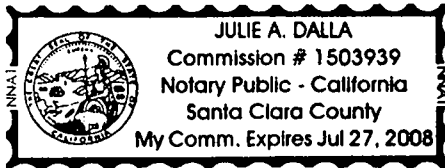
State of California)
) ss.
County of Santa Clara)

On April 13, 2006, before me, Julie A. Dalla, Notary Public
DATE NAME, TITLE OF OFFICER - E.G., "JANE DOE, NOTARY PUBLIC"

personally appeared Suryanarayana Sankuratri

NAME(S) OF SIGNER(S)

☐ personally known to me - OR - ☒



proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person whose name is subscribed to the within instrument and acknowledged to me that he executed the same in his authorized capacity, and that by his signature on the instrument the person, or the entity upon behalf of which the person acted, executed the instrument.

WITNESS my hand and official seal.

Julie A. Dalla
SIGNATURE OF NOTARY



No. 07-100877- -00000-0000

Fecha: 2007-09-27 16:11:40 Dep. 2020 NUECREACIONE
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 134

Industria y Comercio
 SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION ☒MODELO DE UTILIDAD ☐

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒ 1
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒ 1
- ◆ Descripción de la invención ☒
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☒ 2y3

COMPLETA ☒INCOMPLETA ☐DISEÑO INDUSTRIAL ☐

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

COMPLETA ☐INCOMPLETA ☐ESQUEMA DE TRAZADO ☐

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

COMPLETA ☐INCOMPLETA ☐

Firma Responsable

Fecha _____

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
 Conmutador: 3 82 08 40
 Fax: 350 52 20
 E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
 Bogotá, D.C., Colombia

136

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Folio 136

2020

Bogotá D.C.,

Doctor(a)

LLOREDA RICAURTE ALICIA

Apoderado(a) y/o Representante de

F. HOFFMANN-LAROCHE AG.

REFERENCIA	Radicación No.	7 100877
	Solicitud internacional	PCT/EP2006/002974
	Fecha inicio fase nacional	01/11/2007
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	416
	Oficio No.	4645
	Folios	1

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

Cúmplase

Dado en Bogotá DC,

ALIX CARMENZA CUSPEDES DE VERGEL

Jefe de la división de Nuevas Creaciones

jfernand