



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA



OK
P6F

Organización y
Digitalización CSA Ltda

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

09-7783

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO "ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI-IL-6 Y
USOS DE LOS MISMOS"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL C07K 16/24

71. SOLICITANTE VACCINEX, INC.

DOMICILIO : ROCHESTER, ESTADO DE NEW YORK,
ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

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

22. BOGOTÁ, D.C.

8 ENE 2009

99

(FORMA P 10)

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-007783- -00000-0000

Fecha: 2009-01-28 16:12:59 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 280

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

03 marzo 2009

①

SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención

☐ Patente de Modelo de Utilidad

☒ Capítulo I.

☐ Capítulo II.

②

SOLICITANTE (71)

Nombre: **VACCINEX, INC.**

Dirección: 1895 Mount Hope Avenue,
Rochester, NY 14620, Estados Unidos de
América.

Nacionalidad o Domicilio: Rochester,
Estado de New York, Estados Unidos de
América.

Lugar de Constitución:

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION

C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

③

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

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

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 39.690.713 TP 53.215

④

INVENTOR(ES) (72)

Nombre: SMITH, Ernest, S. y WANG, Wei.

Dirección: 328 Boston Road, Ontario, NY 14519 y 28 Wenham Lane, Pittsford,
NY 14534.

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América.

⑤

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2007/017337

Fecha: 03/08/07

Publicación Internacional No. WO 2008/019061 A3

Fecha: 14/02/08

⑥

Título (54) **"ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI-IL-6 Y USOS DE LOS MISMOS"**

⑦

Clasificación Internacional (51) C07K 16/24

⑧

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

03/08/06

(31) Número de Solicitud

60/835,107

⑨

Comprobante de Pago No. 09-1,640

Fecha: Enero 8 de 2009

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.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ 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, Publicación, Opinión Escrita y Listado de Secuencias.

11

FIGURA CARACTERISTICA:

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA:

G.C. 39.690.713 T.P. 53.215

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 1,640
FECHA : ENERO 8 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-007783- -00000-0000

Fecha: 2009-01-28 16:12:59 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 280

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLORED A Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	97134715	08/01/2009	13,390,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	540,000.00
		TOTAL :	\$ 540,000.00

SON: QUINIENTOS CUARENTA MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

(21) No.° de solicitud:	(51) Int Cl: C07K 16/24
(22) Fecha de solicitud: 28-01-09	(71) Solicitante(s) VACCINEX, INC.
(30) Prioridad (31) No. Prioridad 60/835,107 (32) Fecha 03/08/06 (33) País US	(72) Inventor(es) SMITH, Ernest, S. y WANG, Wei.
	(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 03/03/09	(87) Publicación internacional
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT	Fecha: 14/02/08
Fecha de presentación de la solicitud: 03/08/07	N° publicación: WO 2008/019061 A3
No. de solicitud PCT/US2007/017337	
(54) Titulo: "ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI-IL-6 Y USOS DE LOS MISMOS"	

Resumen - Reivindicación(es):

Reivindicación número 1:

Un anticuerpo monoclonal aislado, el cual comprende:

(a) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende:

(i) una VH-CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 51 a 55 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

(ii) una VH-CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:97, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 56 a 61 ó 97 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

(iii) una VH-CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:98, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 62 a 73 ó 98 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos; y

(b) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende:

(i) una VL-CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO: 79, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 74 a 79 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

(ii) una VL-CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:85, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 80 a 85 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

(iii) una VL-CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:86, SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:91, SEQ ID NO:92, SEQ ID NO:93, SEQ ID NO:94, SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 86 a 96 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

en donde este anticuerpo se enlaza específicamente a un antígeno de IL-

6.



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

SUPERINTENDENCIA

PATENTE DE INVENCION ____ **PCT** X **MODELO DE UTILIDAD** ____ **DISEÑO INDUSTRIAL** ____

(21) N° de solicitud:

(22) Fecha de solicitud: 28/01/09

(51) Clasificación Internacional : C07K 16/24

(71) Solicitante(s) **VACCINEX, INC.**

(72) Inventor(es) SMITH, Ernest, S. y WANG, Wei.

(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE

(30) Prioridad

(31)

No. Prioridad

60/835,107

(32)

Fecha

03-08-06

(33)

País

US

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 03-03-09

(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha de presentación de la solicitud: **03/08/07**

No. de solicitud **PCT/US2007/017337**

(87) Publicación internacional:

Fecha: **14/02/08**

No. Publicación : **WO 2008/019061 A3**

(54) Título: **"ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI-IL-6 Y USOS DE LOS MISMOS"**

(21) N° de solicitud:		(22) Fecha de solicitud: 28/01/09	
(51) Clasificación Internacional: C07K 16/24			
(71) Solicitante(s) VACCINEX, INC.			
(72) Inventor(es) SMITH, Ernest, S. y WANG, Wei.			
(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE			
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	60/835,107	03-08-06	US
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 03-03-09		(87) Publicación internacional:	
(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT		Fecha: 14/02/08	
Fecha de presentación de la solicitud: 03/08/07		No. Publicación: WO 2008/019061 A3	
No. De solicitud PCT/US2007/017337			

FIGURA CARACTERISTICA

6 x 6 cm

(54) Título: "ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI-IL-6 Y USOS DE LOS MISMOS"

(57) Resumen:

Reivindicación número 1:

Un anticuerpo monoclonal aislado, el cual comprende:

(a) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende:

(i) una VH-CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 51 a 55 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

(ii) una VH-CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:97, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 56 a 61 ó 97 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

(iii) una VH-CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:98, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 62 a 73 ó 98 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos; y

(b) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende:

(i) una VL-CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO: 79, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 74 a 79 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

(ii) una VL-CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:85, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 80 a 85 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

(iii) una VL-CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:86, SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:91, SEQ ID NO:92, SEQ ID NO:93, SEQ ID NO:94, SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 86 a 96 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

en donde este anticuerpo se enlaza específicamente a un antígeno de IL-

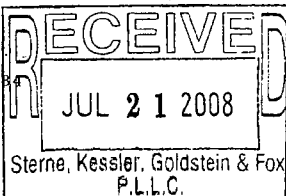
PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

STERNE, KESSLER, GOLDSTEIN & FOX P.L.L.C.
Attn: Steffe, Eric K.
1100 New York Avenue, N.W.
Washington, D.C. 20005-3934
ETATS-UNIS D'AMERIQUE



NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

7/21/08

(PCT Rule 44.1)

Date of mailing
(day/month/year)

15/07/2008

Applicant's or agent's file reference

2521.001PC01

FOR FURTHER ACTION

See paragraphs 1 and 4 below

International application No.

PCT/US2007/017337

International filing date
(day/month/year)

03/08/2007

Applicant

VACCINEX, INC.

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the International Search Report.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 338.82.70

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.

3. ☐ **With regard to the protest** against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.

☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Reminders

Shortly after the expiration of **18 months** from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.

Within **19 months** from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase **until 30 months** from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, **within 20 months** from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

In respect of other designated Offices, the time limit of **30 months** (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the PCT Applicant's Guide, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the International Searching Authority



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

Stefanie Büchler

Written Opinion due 10/15/08
Rule 1.56 IDS 8/15/08
Inventor's Comments 10/15/08
due 12/3/08

DOCKETED

(See notes on accompanying sheet)

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the *PCT Applicant's Guide*, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article", "Rule", and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions, respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report and the written opinion of the International Searching Authority, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Annexes B1 and B2).

The attention of the applicant is drawn to the fact that amendments to the claims under Article 19 are not allowed where the International Searching Authority has declared, under Article 17(2), that no international search report would be established (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, paragraph 296).

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When?

Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How?

Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 2521.001PC01	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2007/017337	International filing date (day/month/year) 03/08/2007	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 03/08/2006
Applicant VACCINEX, INC.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 6 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out 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))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. ☒ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
b. ☒ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2007/017337

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out 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 purpose of search
2. ☒ 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.
3. Additional comments:

INT NATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2007/017337

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K16/24 A61K39/395 A61P35/00 A61P19/02

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K A61K A61P

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

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

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 39 39 706 C1 (CENTRE REGIONAL DE TRANSFUSION SANGUINE, BESANCON, FR; BIOTEST PHARMA) 21 March 1991 (1991-03-21) the whole document	1-19, 26-66, 81,82, 84,85, 89-93
Y	-----	1-93
X	WIJDENES J ET AL: "Human recombinant dimeric il-6 binds to its receptor as detected by anti-il-6 monoclonal antibodies" MOLECULAR IMMUNOLOGY, ELMSFORD, NY, US, vol. 28, no. 11, 1 January 1991 (1991-01-01), pages 1183-1192, XP002974189 ISSN: 0161-5890 the whole document ----- -/--	1-19, 26-66, 84,85

☒ 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

4 July 2008

Date of mailing of the international search report

15/07/2008

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

Pérez-Mato, Isabel

INT NATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2007/017337

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 312 996 A (KISHIMOTO TADAMITSU [JP]) 26 April 1989 (1989-04-26) the whole document -----	1-19, 26-66, 81-84, 89,90
X	EP 0 399 429 A (TORAY INDUSTRIES [JP]) 28 November 1990 (1990-11-28) page 2, line 39 - page 6, line 31 -----	1-19, 26-66, 81-84, 89-91
X	EP 0 410 813 A (FUJIREBIO KK [JP]; KISHIMOTO TADAMITSU [JP]) 30 January 1991 (1991-01-30) page 3, line 7 - page 8, line 21 -----	1-19, 26-66
X	SHIMAMURA T ET AL: "ANALYSIS OF INTERLEUKIN 6 (IL-6)/IL-6 RECEPTOR SYSTEM USING MONOCLONAL ANTI-IL-6 ANTIBODIES" MOLECULAR IMMUNOLOGY, ELMSFORD, NY, US, vol. 28, no. 11, 1 November 1991 (1991-11-01), pages 1155-1161, XP000764448 ISSN: 0161-5890 the whole document -----	1-19, 26-66
Y	WO 2004/039826 A (CENTOCOR INC [US]) 13 May 2004 (2004-05-13) page 14, line 24 - page 83, line 18 -----	1-93
Y	EP 1 536 012 A (JURIDICAL FOUNDATION [JP] CHEMO SERO THERAPEUT RES INST [JP]) 1 June 2005 (2005-06-01) page 3 - page 9 -----	1-93
Y	US 5 856 135 A (TSUCHIYA MASAYUKI [JP] ET AL) 5 January 1999 (1999-01-05) the whole document -----	1-93
A	US 2005/196755 A1 (ZAUDERER MAURICE [US] ET AL) 8 September 2005 (2005-09-08) cited in the application the whole document -----	

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2007/017337

Box No. 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 claims 81-87 are directed to a method of treatment of the human/animal body, 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 No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search reportcovers 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 and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2007/017337

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 3939706	C1	21-03-1991	BR 9006128 A EP 0430193 A1 JP 3232485 A	24-09-1991 05-06-1991 16-10-1991
EP 0312996	A	26-04-1989	DE 3889062 D1 DE 3889062 T2 JP 2000488 A JP 2598666 B2	19-05-1994 10-11-1994 05-01-1990 09-04-1997
EP 0399429	A	28-11-1990	NONE	
EP 0410813	A	30-01-1991	DE 69024871 D1 DE 69024871 T2 JP 2881311 B2 JP 3061496 A	29-02-1996 14-08-1996 12-04-1999 18-03-1991
WO 2004039826	A	13-05-2004	BR 0214168 A CN 1694894 A JP 2007528691 T	14-09-2004 09-11-2005 18-10-2007
EP 1536012	A	01-06-2005	AU 2003261787 A1 CA 2496523 A1 CN 1678744 A WO 2004020633 A1 KR 20050058486 A US 2006240012 A1	19-03-2004 11-03-2004 05-10-2005 11-03-2004 16-06-2005 26-10-2006
US 5856135	A	05-01-1999	AU 6808194 A WO 9428159 A1 TW 458985 B US 6121423 A ZA 9403778 A	20-12-1994 08-12-1994 11-10-2001 19-09-2000 21-02-1995
US 2005196755	A1	08-09-2005	NONE	

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
14 February 2008 (14.02.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/019061 A3

(51) International Patent Classification:

C07K 16/24 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) A61P 19/02 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2007/017337

(22) International Filing Date: 3 August 2007 (03.08.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

60/835,107 3 August 2006 (03.08.2006) US

(71) Applicant (for all designated States except US): VAC-
CINEX, INC. [US/US]; 1895 Mount Hope Avenue,
Rochester, NY 14620 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): SMITH, Ernest,
S. [US/US]; 328 Boston Road, Ontario, NY 14519 (US).
WANG, Wei [US/US]; 28 Wenham Lane, Pittsford, NY
14534 (US).

(74) Agents: STEFFE, Eric, K. et al.; Sterne, Kessler, Gold-
stein & Fox P.L.L.C., 1100 New York Avenue, N.W., Wash-
ington, DC 20005-3934 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG,
ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL,
IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,
MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL,
PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,
ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, 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, MT, 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).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a
patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the
earlier application (Rule 4.17(iii))

Published:

- with international search report
- with sequence listing part of description published sepa-
rately in electronic form and available upon request from
the International Bureau

(88) Date of publication of the international search report:
9 October 2008

WO 2008/019061 A3

(54) Title: ANTI-IL-6 MONOCLONAL ANTIBODIES AND USES THEREOF

(57) Abstract: The present invention provides novel monoclonal antibodies that bind specifically to IL-6. The antibodies of the invention comprise a variable heavy chain (VH) region selected from any of the VH regions disclosed herein as well as amino acid variants thereof, and/or a variable light chain (VL) region selected from any of the VL regions disclosed herein as well as amino acid variants thereof. The invention also provides methods of treating diseases and disorders associated with IL-6 expression and/or activity.

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

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/US2007/017337

International filing date (day/month/year)
03.08.2007

Priority date (day/month/year)
03.08.2006

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07K16/24 A61K39/395 A61P35/00 A61P19/02

Applicant
VACCINEX, INC.

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

- ☒ 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

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

Pérez-Mato, Isabel

Telephone No. +49 89 2399-2128



WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US2007/017337

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. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. 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.
4. ☒ 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.
5. Additional comments:

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	<u>20-25,67-80,86-88</u>
	No: Claims	<u>1-19,26-66,81-85,89-93</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-93</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-93</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

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

see separate sheet

Summary

The present application relates to antibodies specific for IL-6 and uses of said antibodies in therapy of diseases mediated by this cytokine.

Reference is made to the following documents:

- D1: DE 39 39 706 C1 (CENTRE REGIONAL DE TRANSFUSION SANGUINE, BESANCON, FR; BIOTEST PHARMA) 21 March 1991 (1991-03-21)
- D2: WIJDENES J ET AL: "Human recombinant dimeric il-6 binds to its receptor as detected by anti-il-6 monoclonal antibodies" MOLECULAR IMMUNOLOGY, ELMSFORD, NY, US, vol. 28, no. 11, 1 January 1991 (1991-01-01), pages 1183-1192, XP002974189 ISSN: 0161-5890
- D3: EP-A-0 312 996 (KISHIMOTO TADAMITSU [JP]) 26 April 1989 (1989-04-26)
- D4: EP-A-0 399 429 (TORAY INDUSTRIES [JP]) 28 November 1990 (1990-11-28)
- D5: EP-A-0 410 813 (FUJIREBIO KK [JP]; KISHIMOTO TADAMITSU [JP]) 30 January 1991 (1991-01-30)
- D6: SHIMAMURA T ET AL: "ANALYSIS OF INTERLEUKIN 6 (IL-6)/IL-6 RECEPTOR SYSTEM USING MONOCLONAL ANTI-IL-6 ANTIBODIES" MOLECULAR IMMUNOLOGY, ELMSFORD, NY, US, vol. 28, no. 11, 1 November 1991 (1991-11-01), pages 1155-1161, XP000764448 ISSN: 0161-5890
- D7: WO 2004/039826 A (CENTOCOR INC [US]) 13 May 2004 (2004-05-13)
- D8: EP-A-1 536 012 (JURIDICAL FOUNDATION [JP] CHEMO SERO THERAPEUT RES INST [JP]) 1 June 2005 (2005-06-01)
- D9: US-A-5 856 135 (TSUCHIYA MASAYUKI [JP] ET AL) 5 January 1999 (1999-01-05)
- D10: US 2005/196755 A1 (ZAUDERER MAURICE [US] ET AL) 8 September 2005 (2005-09-08) cited in the application

Re Item V

Novelty, inventive step and industrial applicability

1. The present application does not meet the criteria of **Article 33(1) PCT**, because the subject-matter of claims 1, 2, 7, 26, 54, 81, 82, 84 and 89-91 is not new in the sense of **Article 33(2) PCT**.

D1 and D2 disclose three mouse monoclonal antibodies (mAbs) specific IL-6, capable of inhibiting IL-6-dependent cell proliferation (over 80%, tested in cell lines B9 and U266). Also disclosed in D1 is the use of these antibodies in the treatment of autoimmune diseases and cancer (including multiple myeloma). No CDR sequences are provided.

D3 discloses five anti-IL-6 mAbs, and the use of these for treatment of rheumatoid arthritis and cancer such as myeloma. The CDR sequences of these antibodies are not provided.

D4 discloses an anti-IL-6 mAb which has a strong neutralizing activity against the biological activity of IL-6. Also shown is the use of these antibodies in the treatment of autoimmune diseases, such as rheumatoid arthritis, and tumors like myeloma. No sequences are provided.

D5 discloses two anti-IL-6 mAbs which inhibit binding of IL-6 to its receptor, the CDR sequences of these antibodies are not disclosed.

D6 discloses five mice mAbs against IL-6, capable of neutralizing its biological activity, whose CDR sequences are not disclosed.

Since the sequences of some of the monoclonal antibodies in the prior art (the above recited) are not known, it is not possible to determine whether they would fall within the scope of claims 1, 2, 7, 26 and 54, in particular due to the multiple

possible amino acid substitutions and/or the 80% homology. Therefore, in the absence of prior art sequence information, the subject-matter of claims 1, 2, 7, 26 and 54 is considered not novel (**Article 33(2) PCT**).

Since the antibodies of the above mentioned claims are not considered novel, the corresponding claims directed to methods of treating inflammatory or autoimmune diseases and cancer using said antibodies, along with claims directed to compositions comprising said antibodies for use in said treatments, i.e.: claims 81, 82, 84 and 89-91, cannot be considered novel in light of D1-D4.

2. The present application does not meet the criteria of **Article 33(1) PCT**, because the subject-matter of claims 1-93 does not involve an inventive step in the sense of **Article 33(3) PCT**.

Regarding claims 1, 2, 7, 26 and 54, if the claimed subject-matter of these claims were proven to be novel, they would still be considered as not involving an inventive step, due to the following. D1 is regarded as being the closest prior art to the subject-matter of the above recited claims, disclosing anti-IL-6 monoclonal antibodies, which are capable of inhibiting cell proliferation to the same extent as the claimed antibodies.

The subject-matter of claims 1, 2, 7, 26 and 54 therefore differs from this D1 in that the antibodies of D1 may not comprise the specific CDR sequences of the above claims. However, there does not seem to be any technical effect derived from said difference.

The problem to be solved by the present invention may therefore be regarded as the provision of further anti-IL-6 antibodies.

The solution proposed in claims 1, 2, 7, 26 and 54 of the present application cannot be considered as involving an inventive step (**Article 33(3) PCT**) for the following reasons. D7 discloses anti-IL-6 mAbs with pM affinities, nucleic acids encoding

them, expression vectors and host cells used in methods to produce said antibodies and use of the antibodies in therapeutics. Furthermore, D8 and D9 also disclose monoclonal antibodies specific for IL-6 as well as methods to obtain them. In view of these teachings, the skilled person would apply these known methods to obtain further antibodies specific for IL-6, without the exercise of inventive skill.

The same reasoning applies, mutatis mutandis, to the subject-matter of the corresponding independent claims 20-25, 67-69, 71, 73-80, 87 and 88, which therefore are also considered not inventive.

3. Dependent claims 2-6, 8-19, 27-53, 55-66, 70, 72, 83, 85, 86, 92 and 93 do not contain any features which, in combination with the features of any claim to which they refer, meet the requirements of the **PCT** in respect of novelty and/or inventive step, see documents D1-D10 and the corresponding passages cited in the search report.
4. Claims 81-87 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of **Rule 39.1(iv) / 67.1(iv) PCT**. The patentability can be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment.

Re Item VIII

The application does not meet the requirements of **Article 5** and **6 PCT**, because claims 1-19 are not clear or sufficiently disclosed.

Claim 1 relates to an extremely large number of possible antibodies, obtained by all possible combinations of 5 different VH-CDR1s, with 7 different VH-CDR2s, with 13 different VH-CDR3s to form a VH, which is in turn combined with an VL obtained by all possible combinations of 6 different VL-CDR1s, with 6 different VL-CDR2s, with 11 different VL-CDR3s. Moreover, combinations of all the above sequences having up to 5 amino acid substitutions are also claimed. Support and disclosure in the sense of **Article 6** and **5 PCT** is to be found however for only a limited number of the antibodies claimed, those described in Examples 1 and 2. The search has been limited to the antibodies which appear to be supported and to the general concept of monoclonal antibodies specific for IL-6.

In order to carry out the invention over the whole breadth of the claims, the skilled person would have to first obtain the antibodies comprising all possible combinations of CDRs, and second, carry out all possible mutations at all possible positions of said CDRs to obtain further antibodies, without knowing beforehand whether the antibodies will bind IL-6 or not. Therefore, the skilled person would be faced with undue burden of experimentation and as a consequence, the application lacks disclosure in the sense of **Article 5 PCT**.

Additionally, claims 1-19 attempt to define antibodies in terms of the sequence of either their heavy or their light chains. It is considered that said characterization is not sufficient, since an antibody needs at least a VH and a VL domain for proper and specific antigen binding. Furthermore, all three CDRs of each the VH and the VL need to be specified, since the specification of one CDR sequence in the absence of the other CDRs is unlikely to provide all the essential features of the antibody.

Finally, claim 1 relates to an antibody with a VH comprising a VH-CDR1 comprising in turn an amino acid sequence selected from SEQ ID NO: 51-55 **and** an amino acid sequence identical to SEQ ID NO: 51-55 except for 1-5 amino acid substitutions. It can be derived from this claim that the claimed antibody comprises 2 VH-CDR1 and analogously, 2 VH-CDR2, 2 VH-CDR3, 2 VL-CDR1, 2 VL-CDR2 and 2 VL-CDR3. This antibody structure, however, cannot be found in the description, and thus, it is unclear (**Article 6 PCT**) whether claim 1 was intended to refer to a VH-CDR1 comprising SEQ ID NO: 51-55 **or** mutants thereof (and similarly for the other

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)

International application No.

PCT/US2007/017337

VH and VL CDRs), instead of "**and** mutants thereof".

Possible steps after receipt of the international search report (ISR) and written opinion of the International Searching Authority (WO-ISA)

General information	For all international applications filed on or after 01/01/2004 the competent ISA will establish an ISR. It is accompanied by the WO-ISA. Unlike the former written opinion of the IPEA (Rule 66.2 PCT), the WO-ISA is not meant to be responded to, but to be taken into consideration for further procedural steps. This document explains about the possibilities.
Amending claims under Art. 19 PCT	Within 2 months after the date of mailing of the ISR and the WO-ISA the applicant may file amended claims under Art. 19 PCT directly with the International Bureau of WIPO. The PCT reform of 2004 did not change this procedure. For further information please see Rule 46 PCT as well as form PCT/ISA/220 and the corresponding Notes to form PCT/ISA/220.
Filing a demand for international preliminary examination	In principle, the WO-ISA will be considered as the written opinion of the IPEA. This should, in many cases, make it unnecessary to file a demand for international preliminary examination. If the applicant nevertheless wishes to file a demand this must be done before expiry of 3 months after the date of mailing of the ISR/ WO-ISA or 22 months after priority date, whichever expires later (Rule 54bis PCT). Amendments under Art. 34 PCT can be filed with the IPEA as before, normally at the same time as filing the demand (Rule 66.1 (b) PCT). If a demand for international preliminary examination is filed and no comments/amendments have been received the WO-ISA will be transformed by the IPEA into an IPRP (International Preliminary Report on Patentability) which would merely reflect the content of the WO-ISA. The demand can still be withdrawn (Art. 37 PCT).
Filing informal comments	After receipt of the ISR/WO-ISA the applicant may file informal comments on the WO-ISA directly with the International Bureau of WIPO. These will be communicated to the designated Offices together with the IPRP (International Preliminary Report on Patentability) at 30 months from the priority date. Please also refer to the next box.
End of the international phase	At the end of the international phase the International Bureau of WIPO will transform the WO-ISA or, if a demand was filed, the written opinion of the IPEA into the IPRP, which will then be transmitted together with possible informal comments to the designated Offices. The IPRP replaces the former IPEA (international preliminary examination report).
Relevant PCT Rules and more information	Rule 43 PCT, Rule 43bis PCT, Rule 44 PCT, Rule 44bis PCT, PCT Newsletter 12/2003, OJ 11/2003, OJ 12/2003

Bitte beachten Sie, dass angeführte Nichtpatentliteratur (wie z. B. wissenschaftliche oder technische Dokumente) je nach geltendem Recht dem Urheberrechtsschutz und/oder anderen Schutzarten für schriftliche Werke unterliegen könnte. Die Vervielfältigung urheberrechtlich geschützter Texte, ihre Verwendung in anderen elektronischen oder gedruckten Publikationen und ihre Weitergabe an Dritte ist ohne ausdrückliche Zustimmung des Rechtsinhabers nicht gestattet.

Veuillez noter que les ouvrages de la littérature non-brevets qui sont cités, par exemple les documents scientifiques ou techniques, etc., peuvent être protégés par des droits d'auteur et/ou toute autre protection des écrits prévue par les législations applicables. Les textes ainsi protégés ne peuvent être reproduits ni utilisés dans d'autres publications électroniques ou imprimées, ni rediffusés sans l'autorisation expresse du titulaire du droit d'auteur.

Please be aware that cited works of non-patent literature such as scientific or technical documents or the like may be subject to copyright protection and/or any other protection of written works as appropriate based on applicable laws. Copyrighted texts may not be copied or used in other electronic or printed publications or re-distributed without the express permission of the copyright holder.

XS CPRTENFRDE

ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI-IL-6
Y USOS DE LOS MISMOS

RESUMEN – OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

5

La presente invención proporciona novedosos anticuerpos monoclonales que se enlazan específicamente con IL-6. Los anticuerpos de la invención comprenden una región de cadena pesada variable (VH) a partir de cualquiera de las regiones VH dadas a conocer en la presente, así como las variantes de aminoácidos de las mismas, y/o una región de cadena ligera variable (VL) seleccionada a partir de cualquiera de las regiones VL dadas a conocer en la presente, así como las variantes de aminoácidos de las mismas. La invención también proporciona métodos para el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados con la expresión y/o actividad de IL-6.

* * * * *

20

25

ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI-IL-6**Y USOS DE LOS MISMOS****ANTECEDENTES DE LA INVENCION****5 Campo de la Invención**

[0001] La presente invención se refiere al campo de los anticuerpos monoclonales, y a uso en el tratamiento de enfermedades y trastornos. De una manera más específica, la invención se refiere a anticuerpos monoclonales que se enlazan específicamente con la citoquina IL-6, y a los usos de los anticuerpos para el tratamiento de las enfermedades y trastornos asociados con la actividad o expresión de IL-6.

Técnica Relacionada

[0002] La interleucina-6 (IL-6) es una glicoproteína secretada de 22 a 27 kDa, que exhibe actividades estimulantes del crecimiento y pro-inflamatorias. La IL-6 también se conoce como interferón- β 2 (IFN- β 2), proteína de 26 kDa inducible por IL-1, factor estimulante de hepatocitos, factor de diferenciación de células-T citotóxicas, y factor estimulante de células-B (Tripathi y colaboradores, *Clin. Cancer Res.* 9:4653-4665 (2003)). La IL-6 es secretada por diferentes tipos de células. La IL-6 ejerce sus actividades a través del enlace con un complejo de receptor de alta afinidad que consiste en dos glicoproteínas de membrana: un receptor componente de 80 kDa que se enlaza a IL-6 con una baja afinidad (IL-6R), y un componente de transducción de señales de 130

kDa (gp130), que no se enlaza a la IL-6 por sí mismo, pero que se requiere para el enlace de alta afinidad de IL-6 con el complejo. (Véase la Figura 11; BioCarta). El IL-6R se puede disociar mediante una metaloproteinasa transmembrana para proporcionar el IL-6R soluble.

[0003] Los niveles en sangre de IL-6 son elevados en numerosas infecciones, enfermedades inflamatorias y autoinmunes, y en el cáncer, en asociación con la mayor síntesis de otras citoquinas estimulada por la infección, el trauma, y la agresión inmunológica. (Trikha y colaboradores, *Clin. Cancer Res.* 9:4653-4665 (2003)).

[0004] La IL-6 se ha implicado en diferentes enfermedades y trastornos, tales como mieloma múltiple (Rossi y colaboradores, *Bone Marrow Transplantation* 36:771-779 (2005)), linfomas (Emilie y colaboradores, *Blood* 84:2472-2479 (1994)), trastornos neurológicos, tales como neurodegeneración, astrocitosis, y angiogénesis cerebral (Campbell y colaboradores, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90:10061-10065 (1993)), trastornos autoinmunes (tales como, por ejemplo artritis reumatoide), enfermedades inflamatorias, enfermedad de Alzheimer, infarto de miocardio, enfermedad de Paget, osteoporosis, tumores sólidos, cánceres prostático y de vejiga (Trikha y colaboradores, *Clin. Cancer Res.* 9:4653-4665 (2003)), choque séptico, trasplante, infecciones agudas del sistema nervioso central, mixoma cardíaco (Wijdenes y colaboradores, *Mol. Immunol.* 28:1183-1192 (1991)), caquexia inducida por tumor (Cahlin y colaboradores, *Cancer Res.* 60:5488-5489 (2000)), y edema cerebral secundario a tumores del

cerebro (Musselman y colaboradores, *Am. J. Psychiatry* 158:1252-1257 (2001)).

[0005] En adición, se ha demostrado que los anticuerpos anti-IL-6 son efectivos en el tratamiento de varias enfermedades y trastornos. Por ejemplo, se ha demostrado que los anticuerpos monoclonales anti-IL-6 bloquean la proliferación de las células de mieloma tanto *in vivo* como *in vitro*. (Rossi y colaboradores, *Bone Marrow Transplantation* 36:771-779 (2005)). Se encontró que la administración de anticuerpos anti-IL-6 a los pacientes de artritis reumatoide crónica alivia los síntomas de la enfermedad (Wendling y colaboradores, *J. Rheumatol.* 20:259-262 (1993)). También se ha demostrado que los anticuerpos anti-IL-6 son efectivos en el tratamiento del linfoma asociado con SIDA (Emilie y colaboradores, *Blood* 84:2472-2479 (1994)), y del carcinoma metastásico de células renales (Blay y colaboradores, *Int. J. Cancer* 72:424-430 (1997)). Los resultados clínicos que involucran la administración de anticuerpos anti-IL-6 para tratar otras diferentes enfermedades y trastornos se resumen en Trikha y colaboradores, *Clin. Cancer Res.* 9:4653-4665 (2003).

[0006] Los anticuerpos anti-IL-6 se conocen en la técnica. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales anti-IL-6 humanos reconfigurados (es decir, humanizados) derivados a partir de un anticuerpo monoclonal de ratón (SK2) se estipulan en las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números 5,618,700 y 5,856,135. Otros anticuerpos anti-IL-6 incluyen un anticuerpo

conocido como CLB-6/8 (Brakenhoff y colaboradores, *J. Immunol.* 145:561-568 (1990)), y una forma quimérica del mismo, conocida como cCLB8 (Van Zaanen y colaboradores, *J. Clin. Invest.* 98:1441-1448 (1996)). Se ha utilizado clínicamente un anticuerpo monoclonal (mAb) anti-IL6- de murino designado como B-E8, para tratar diferentes enfermedades y trastornos asociados con IL-6. (Véanse, por ejemplo, Bataille y colaboradores, *Blood* 86:685-691 (1995), Rossi y colaboradores, *Bone Marrow Transplantation* 36:771-779 (2005), Haddad y colaboradores, *Blood* 15:1590-1597 (2001), y Emilie y colaboradores, *Blood* 84:2472-2479 (1994)).

[0007] El uso de anticuerpos de murino, incluyendo los anticuerpos anti-IL-6 de murino, está comprometido por problemas tales como una selectividad variable para el antígeno objetivo, cortas vidas medias en suero, y el desarrollo de anticuerpos humanos anti-murino (HAMA). Estos problemas se reducen hasta algún grado mediante el desarrollo de anticuerpos quiméricos (en donde las regiones constantes de roedor son reemplazadas por sus contrapartes humanas), o de anticuerpos humanizados/injertados con CDR/reconfigurados (en donde solamente las CDRs son de origen no humano). (Véase en general, Vaughan y colaboradores, *Nat. Biotech.* 16:535-539 (1998)). No obstante, un número de limitaciones prácticas están asociadas con los anticuerpos humanizados, tales como: (1) el número limitado de opciones para las rutas para una construcción eficiente de anticuerpos monoclonales humanizados, (2) la necesidad de un conocimiento detallado de la estructura o

modelación del anticuerpo, (3) la inmunogenicidad impredecible debido a un compromiso entre la retención de afinidad y los aminoácidos extraños introducidos, y (4) las limitaciones en el repertorio de anticuerpos para el animal en donde se origina el anticuerpo monoclonal progenitor. (Vaughan y colaboradores, *Nat. Biotechnol.* 16:535-539 (1998)). Estas limitaciones se pueden resolver mediante el uso de anticuerpos monoclonales humanos. (Lonberg, *Nat. Biotechnol.* 23:1117-1125 (2005)).

[0008] Por consiguiente, existe una necesidad en la técnica de anticuerpos monoclonales anti-IL-6 adicionales para aplicaciones clínicas, incluyendo anticuerpos monoclonales anti-IL-6 humanos. La presente invención resuelve esta necesidad existente en la técnica.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

[0009] La presente invención proporciona novedosos anticuerpos monoclonales que se enlazan específicamente con IL-6. Los anticuerpos de la invención comprenden una región de cadena pesada variable (VH) seleccionada a partir de cualquiera de las regiones VH dadas a conocer en la presente, así como las variantes de aminoácidos de las mismas, y/o una región de cadena ligera variable (VL) seleccionada a partir de cualquiera de las regiones VL dadas a conocer en la presente, así como las variantes de aminoácidos de las mismas.

[0010] En una realización de ejemplo de la invención, se obtuvieron múltiples regiones VH y VL a partir de una biblioteca de

genes de VH y VL humanos. Las cadenas pesadas de anticuerpo que contenían las regiones VH humanas obtenidas de la biblioteca se emparejaron con las cadenas ligeras de un anticuerpo monoclonal anti-IL-6 de murino conocido (es decir, B-E8). De la misma manera, las cadenas ligeras de anticuerpo que contenían las regiones VL humanas obtenidas de la biblioteca, se emparejaron con las cadenas pesadas de un anticuerpo monoclonal anti-IL-6 de murino conocido (es decir, B-E8). Los anticuerpos resultantes se rastrearon para determinar su capacidad para enlazarse específicamente con un antígeno de IL-6. A partir de este proceso, se identificaron 18 VLs humanas (representadas por las SEQ ID NOs:1 a 18), y siete VHs humanas (representadas por las SEQ ID NOs:19 a 25).

[0011] Todas las VLs identificadas se emparejaron cruzadamente con todas las VHs identificadas. Los anticuerpos resultantes se probaron para determinar su afinidad de enlace con IL-6 mediante ELISA, y para determinar su capacidad para bloquear la proliferación celular inducida por IL-6. A partir de este proceso, se identificaron 33 emparejamientos de VH/VL humanos que exhibieron una afinidad de enlace sustancial y actividad de bloqueo.

[0012] Se introdujeron sustituciones de aminoácidos en ciertas VHs y VLs humanas identificadas mediante el proceso anteriormente descrito. Las VHs y VLs variantes se emparejaron con las VLs y VHs humanas, respectivamente, y nuevamente se probaron los anticuerpos resultantes para determinar su afinidad de enlace de IL-6 y su actividad de bloqueo. A partir de estos experimentos, se

identificaron varios anticuerpos con actividades de enlace y de bloqueo comparables a aquéllas del anticuerpo B-E8 de murino original (o una quimera del mismo). Por consiguiente, la presente invención también incluye anticuerpos que comprenden cualquier
5 combinación de las VHs y VLs variantes obtenidas mediante el proceso ilustrado anteriormente, y descritas con detalle en los ejemplos que se encuentran más adelante.

[0013] La invención también incluye moléculas de ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las regiones VH y/o VL dadas
10 a conocer en la presente, y vectores y células hospederas que comprenden a las moléculas de ácidos nucleicos.

[0014] En algunas realizaciones, los anticuerpos monoclonales novedosos de la presente invención demuestran especificidad de la especie, enlace con, o ayuda en la detección de,
15 la IL-6 humana. En algunas realizaciones, los anticuerpos monoclonales novedosos de la presente invención se enlazan a, o ayudan en la detección de, la IL-6 humana y de mono, pero no la IL-6 de murino o de rata.

[0015] En algunas realizaciones, los anticuerpos monoclonales novedosos de la presente invención inhiben la
20 proliferación de células inducida por IL-6, tales como células de mieloma de murino B9 (ECACC), o las células de mieloma humano U266.

[0016] En algunas realizaciones, los anticuerpos monoclonales novedosos de la presente invención se enlazan a la IL-
25

6, pero no a otros miembros de la súper-familia de IL-6.

[0017] En algunas realizaciones, los anticuerpos monoclonales novedosos de la presente invención se enlazan específicamente a la IL-6, inhibiendo el enlace de la IL-6 con su receptor.

[0018] La invención también incluye métodos para producir un anticuerpo de la presente invención, comprendiendo el método: (i) cultivar una célula hospedera que exprese una o más secuencias de ácidos nucleicos que codifiquen un anticuerpo de la presente invención, y (ii) recuperar el anticuerpo a partir del medio de cultivo.

[0019] La invención también incluye composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo de la presente invención. Se contempla que la composición farmacéutica puede comprender además un vehículo farmacéuticamente aceptable, un adyuvante, o una combinación de los mismos.

[0020] La invención también incluye métodos para prevenir o tratar enfermedades y/o trastornos asociados con la actividad o expresión de IL-6, en donde los métodos comprenden administrar un anticuerpo de la presente invención a un paciente que lo necesite. En una realización, los métodos comprenden administrar una cantidad terapéuticamente o profilácticamente efectiva de una composición farmacéutica que comprenda un anticuerpo de la presente invención, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, a un paciente que lo necesite. En algunas realizaciones, la enfermedad o el trastorno incluye cualquier enfermedad o trastorno mediado por,

asociado con, o causado por la acción de, la IL-6. En algunas realizaciones, la enfermedad o el trastorno que se va a tratar se selecciona a partir del grupo que consiste en una enfermedad o trastorno autoinmune, una enfermedad o trastorno asociado con una angiogénesis aberrante o inapropiada, cáncer, osteoartritis, artritis juvenil idiopática, y condiciones fibróticas.

[0021] La invención también incluye el uso de un anticuerpo de la presente invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por, asociado con, o causado por la acción de, la IL-6. En una realización particular, la invención también se refiere al uso de un anticuerpo de la presente invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno seleccionado a partir del grupo que consiste en una enfermedad o trastorno autoinmune, una enfermedad o trastorno asociado con una angiogénesis aberrante o inapropiada, cáncer, osteoartritis, artritis juvenil idiopática, y condiciones fibróticas.

[0022] La invención también incluye un anticuerpo de la presente invención para utilizarse en el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por, asociado con, o causado por la acción de, la IL-6. En una realización particular, la invención también se refiere al uso de un anticuerpo de la presente invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno seleccionado a partir del grupo que consiste en una enfermedad o trastorno autoinmune, una enfermedad o

trastorno asociado con una anGiógènesis aberrante o inapropiada, cáncer, osteoartritis, artritis juvenil idiopática, y condiciones fibróticas.

5

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0023] La Figura 1 muestra una alineación de las regiones VH humanas de ejemplo, representadas por las SEQ ID NOs:19 a 25, que se pueden incluir dentro de los anticuerpos de la invención.

10

[0024] La Figura 2 muestra los resultados de un ensayo de inhibición de enlace de IL-6, en donde se incubó la IL-6 recombinante humana biotinilada con diferentes anticuerpos anti-IL-6, seguido por la adición de células U266 que llevaban el receptor de IL-6. Se utilizó el análisis de citometría de flujo para cuantificar el porcentaje de inhibición de enlace de IL-6 en diferentes concentraciones de anticuerpo anti-IL-6.

15

[0025] La Figura 3 ilustra el proceso general empleado para la selección por afinidad de los anticuerpos monoclonales a partir de las bibliotecas generadas mediante mutagénesis dirigida al sitio.

20

[0026] La Figura 4 muestra los resultados de un ensayo de inhibición de enlace de IL-6, en donde se incubó la IL-6 recombinante humana con diferentes anticuerpos anti-IL-6, seguido por la adición de células U266 que llevaban al receptor de IL-6. Entonces se agregaron un anticuerpo anti-IL-6 de ratón purificado, y un anticuerpo secundario policlonal de cabra anti-ratón conjugado con APC. Se utilizó el análisis de citometría de flujo para cuantificar

25

la actividad de bloqueo de IL-6 en diferentes concentraciones del anticuerpo anti-IL-6.

5 [0027] Las Figuras 5A y 5B muestran los resultados de los experimentos de especificidad de enlace, en donde se probaron un anticuerpo monoclonal de control 88 (V-E8 quimérico) (Figura 5A), o un anticuerpo monoclonal humano con mejor afinidad candidato 1339 (Figura 5B), mediante ELISA, para determinar el enlace a un panel de los miembros de la súper-familia de IL-6.

10 [0028] Las Figuras 6A y 7A muestran los resultados de los experimentos en donde se probaron los anticuerpos monoclonales específicos de IL-6, para determinar su capacidad para inhibir la interacción entre IL-6 y el receptor de IL-6 expresado sobre las células U266, como se analizó mediante citometría de flujo. Cada columna representa un promedio de tres experimentos +/- desviación estándar.

15 [0029] La Figura 6A muestra que la concentración del anticuerpo monoclonal fue de 0.5 microgramos/mililitro. Por cada anticuerpo monoclonal, las cuatro columnas de izquierda a derecha indican el porcentaje de inhibición de enlace de IL-6 con el receptor de IL-6, en concentraciones de IL-6 de 100.0, 50.0, 25.0, y 12.5 nanogramos/-mililitro, respectivamente.

20 [0030] En la Figura 7A, la concentración de IL-6 fue de 500 nanogramos/mililitro. Por cada anticuerpo monoclonal de la Figura 7A, las ocho columnas de izquierda a derecha indican el porcentaje de inhibición de enlace de IL-6 con el receptor de IL-6, en

25

concentraciones del anticuerpo monoclonal de 5,000, 2,5000, 12,50, 625.0, 156.3, 78.1, y 39.1 nanogramos/mililitro, respectivamente.

[0031] Las Figuras 6B y 7B muestran los resultados de los experimentos representativos individuales a 100 nanogramos/mililitro de IL-6, los cuales ilustran el efecto inhibitor de diferentes anticuerpos monoclonales anti-IL-6, sobre la interacción entre IL-6 y el receptor de IL-6, expresado sobre células U266, como se analizó mediante citometría de flujo. Las líneas sólidas oscuras representan 100 nanogramos/mililitro de IL-6 solamente, en ausencia del anticuerpo monoclonal; las líneas sólidas claras representan 100 nanogramos/mililitro de IL-6 en la presencia del anticuerpo monoclonal; y las líneas punteadas representan el anticuerpo monoclonal solo en ausencia de la IL-6. En la Figura 6B, la concentración del anticuerpo monoclonal, si estaba presente, fue de 0.5 microgramos/mililitro de anticuerpo monoclonal. En la Figura 7B, la concentración del anticuerpo monoclonal, si estaba presente, fue de 0.3 microgramos/mililitro de anticuerpo monoclonal.

[0032] La Figura 8 es un diagrama resumido que muestra los resultados de tres ensayos de inhibición de enlace de IL-6 separados.

[0033] La Figura 9 es un mapa del vector de doble gen del anticuerpo monoclonal 1339 (que expresa una cadena pesada que contiene a la región variable de cadena pesada H15779, y una cadena ligera que contiene a la región variable de cadena ligera L298).

[0034] La Figura 10 muestra los rendimientos de anticuerpo monoclonal obtenidos con diferentes aislados de líneas celulares basados en CHO, que expresaban el vector de doble gen de la anticuerpo monoclonal 1339.

5 **[0035]** La Figura 11 es una representación esquemática de las sendas de señalización de IL-6 (disponibles en BioCarta).

[0036] La Figura 12 muestra los resultados de los experimentos en donde se probaron los anticuerpos monoclonales específicos de IL-6, para determinar su capacidad para inhibir la proliferación de la línea celular de mieloma de murino B9 (ECACC) dependiente de la IL-6. IgG1 Kappa y mB-Z1 son anticuerpos de control del isotipo IgG1 humano y de ratón, respectivamente. Para cada anticuerpo monoclonal, las siete columnas de izquierda a derecha indican el porcentaje de inhibición de la proliferación de células B9 inducida por la IL-6 (10 picogramos/mililitro) en concentraciones de anticuerpo monoclonal de 100, 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001, y 0.0001 nanogramos/mililitro, respectivamente. Cada columna representa un promedio de tres experimentos +/- desviación estándar.

20 **[0037]** La Figura 13 muestra los resultados de los experimentos en donde se probaron los anticuerpos monoclonales específicos de IL-6, para determinar su capacidad para inhibir la proliferación de la línea celular de mieloma humano U266 dependiente de IL-6. Por cada anticuerpo monoclonal, las seis
25 columnas de izquierda a derecha indican el porcentaje de inhibición

de proliferación de células U266 inducida por la IL-6 (500 picogramos/mililitro), en concentraciones de anticuerpo monoclonal de 1,000, 333, 111, 37, 12, y 4 nanogramos/mililitro, respectivamente. Cada columna representa un promedio de tres experimentos +/- desviación estándar.

[0038] Las Figuras 14 y 15 muestran los resultados de los experimentos en donde se probaron los anticuerpos monoclonales específicos de IL-6, para determinar su capacidad para detectar la IL-6 de murino (Figura 14), o la IL-6 de rata (Figura 15), mediante ELISA. Los controles de anticuerpos policlonales (pAb) biotinilados fueron anti-IL-6 humana, anti-IL-6 de ratón, anti-IL-6 de rata, y anti-IL-2 humana. Para la muestra "0", no se agregó anticuerpo alguno. Para cada muestra, las cuatro columnas de izquierda a derecha indican la densidad óptica asociada con el enlace a 100 nanogramos/mililitro de IL-6 de murino o de rata, en concentraciones de anticuerpo de 100, 50, 25, y 12.5 nanogramos/mililitro, respectivamente. Cada columna representa un promedio de dos experimentos +/- desviación estándar.

[0039] La Figura 16 muestra los resultados de los experimentos en donde se probaron los anticuerpos monoclonales específicos de IL-6, para determinar su capacidad para detectar la IL-6 intra-citoplásmica natural en monocitos humanos a partir de células mononucleares de sangre periférica (PBMNC) activadas durante 24 horas con lipopolisacárido. Las líneas más gruesas representan la detección de IL-6 por parte del anticuerpo

monoclonal, a partir de los monocitos estimulados por lipopolisacárido, mientras que las líneas más delgadas representan la ausencia de anticuerpo agregado.

5 [0040] Las Figuras 17 y 18 muestran los resultados de los experimentos en donde se probaron los anticuerpos monoclonales específicos de IL-6, para determinar su capacidad para detectar la IL-6 de plasma. Una muestra con "suero solamente", a la cual no se agregó ningún anticuerpo monoclonal, sirvió como una referencia. La reducción en la señal de densidad óptica en las muestras de anticuerpo específico de IL-6, en comparación con la muestra de "suero solamente", indica la interacción de la IL-6 del suero con los anticuerpos. Los anticuerpos se probaron a 5 microgramos/mililitro.

10 [0041] En la Figura 17, las cuatro columnas de izquierda a derecha indican la densidad óptica asociada con la detección de la IL-6 humana en suero humano, en diluciones en suero de 1, 1/2, 1/4, y 1/8. Cada columna representa un promedio de dos experimentos +/- desviación estándar.

15 [0042] En la Figura 18, las cuatro columnas de izquierda a derecha indican la densidad óptica asociada con la detección de la IL-6 de mono, en el suero de mono Rhesus, en diluciones en suero de 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, y 1/640.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

20 [0043] A menos que se definan de otra manera, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen los

significados comúnmente entendidos por un experto ordinario en la materia a la que pertenece esta invención.

ANTICUERPOS

5 [0044] La presente invención proporciona anticuerpos monoclonales que se enlazan específicamente con la IL-6.

[0045] Como se utiliza en la presente, el término "anticuerpo" incluye moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas de polipéptido, dos cadenas pesadas (H), y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces de disulfuro. Cada

10 cadena pesada está comprendida de una región variable de cadena pesada (abreviada en la presente como VH), y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada está comprendida de tres dominios, CH1, CH2, y CH3. Cada cadena ligera está comprendida de una región variable de cadena ligera (abreviada

15 en la presente como VL), y una región constante de cadena ligera. Las cadenas ligeras de los anticuerpos (inmunoglobulinas) de cualquier especie de vertebrado, se pueden asignar a uno o dos tipos claramente distintos, denominados como kappa (κ) y lambda (λ), basándose en las secuencias de aminoácidos de sus dominios

20 constantes. Las regiones variables de las cadenas ligeras kappa son referidas en la presente como VK. La expresión VL, como se utiliza en la presente, pretende incluir ambas regiones variables de las cadenas ligeras tipo kappa (VK) y de las cadenas ligeras tipo lambda. La región constante de cadena ligera está comprendida de

25 un dominio, CL. Las regiones VH y VL incluyen regiones de híper-

variabilidad, denominadas como regiones determinantes de complementariedad (CDRs), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas como regiones de estructura (FR). Cada VH y VL se compone de tres CDRs y cuatro FRs, configuradas desde el término amino hasta el término carboxilo en el siguiente orden: FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4.

[0046] Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, los anticuerpos se pueden asignar a diferentes clases. Existen cinco clases mayores de anticuerpos intactos: IgA, IgD, IgE, IgG, e IgM, y varias de éstas se pueden dividir adicionalmente en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, e IgA2. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de anticuerpos se denominan como α , δ , ϵ , γ , y μ , respectivamente. Las estructuras subunitarias y las configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas. La presente invención incluye anticuerpos de cualquiera de las clases o subclases (isotipos) anteriormente mencionadas.

[0047] El término "anticuerpo", como se utiliza en la presente, también pretende abarcar los anticuerpos, fragmentos de digestión, porciones especificadas, y variantes de los mismos, incluyendo miméticos de anticuerpos, o que comprendan porciones de anticuerpos que imiten la estructura y/o función de un anticuerpo o un fragmento especificado o una porción del mismo, incluyendo anticuerpos de una sola cadena y fragmentos de los mismos; cada

uno conteniendo cuando menos una región determinante de complementariedad. Los fragmentos funcionales incluyen los fragmentos de enlace de antígeno que se enlazan con un antígeno de IL-6. Por ejemplo, los fragmentos de anticuerpo capaces de 5 enlazarse con IL-6 o una porción de la misma, incluyendo, pero no limitándose a, los fragmentos Fab (por ejemplo, mediante digestión con papaína), Facb (por ejemplo, mediante digestión con plasmina), pFc' (por ejemplo, mediante digestión con pepsina o plasmina), Fd (por ejemplo, mediante digestión con pepsina, reducción parcial, y 10 reaccumulación), Fv ó scFv (por ejemplo, mediante técnicas de biología molecular), están abarcados por la presente invención. También se pretende que los fragmentos de anticuerpo incluyen, por ejemplo, anticuerpos con dominio suprimido, diacuerpos, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo de una sola cadena, y anticuerpos 15 multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos.

[0048] El término "anticuerpo monoclonal", como se utiliza en la presente, se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, por ejemplo, los anticuerpos individuales que comprenden la población son 20 sustancialmente idénticos, excepto por las posibles mutaciones que se presenten naturalmente, o por variaciones menores posteriores a la traducción que puedan estar presentes. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, dirigiéndose contra un solo sitio antigénico. Adicionalmente, en contraste con las preparaciones 25 de anticuerpos convencionales (policlonales), las cuales típicamente

incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítomos), cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un solo determinante sobre el antígeno. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo que se está
5 obteniendo a partir de una población sustancialmente homogénea de anticuerpos, y no debe interpretarse para requerir la producción del anticuerpo mediante cualquier método particular. Los anticuerpos monoclonales de la presente invención de preferencia se hacen mediante métodos de ADN recombinante, o se obtienen mediante
10 métodos de rastreo, como se describe en cualquier otra parte de la presente.

[0049] El término "anticuerpos monoclonales", como se utiliza en la presente, incluye los anticuerpos "quiméricos" (inmunoglobulinas), en donde una porción de la cadena pesada y/o
15 ligera es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes de los anticuerpos derivados a partir de una especie particular, o pertenecientes a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de la cadena es idéntico u homólogo a las secuencias correspondientes de los anticuerpos derivados a partir de
20 otra especie (por ejemplo, de ratón o de rata), o pertenecientes a otra clase o subclase de anticuerpos, así como fragmentos de estos anticuerpos, siempre que exhiban la actividad biológica deseada (Morrison y colaboradores, *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA* 81:6851-6855 (1984)). Los anticuerpos quiméricos de interés en la presente
25 incluyen los anticuerpos "primatizados", los cuales comprenden

secuencias de enlace de antígeno de dominio variable derivadas a partir de un primate no humano (por ejemplo, Mono del Viejo Mundo, tal como Babuino, Rhesus, o mono Cinomolgo), y secuencias de región constante humana (Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,693,780).

[0050] Por consiguiente, la presente invención incluye, por ejemplo, anticuerpos monoclonales quiméricos que comprenden una cadena pesada quimérica y/o una cadena ligera quimérica. La cadena pesada quimérica puede comprender cualquiera de las regiones variables de cadena pesada (VH) descritas en la presente, o mutantes o variantes de las mismas fusionadas a una región constante de cadena pesada de un anticuerpo no humano. La cadena ligera quimérica puede comprender cualquiera de las regiones variables de cadena ligera (VL) descritas en la presente, o mutantes o variantes de las mismas, fusionadas a una región constante de cadena ligera de un anticuerpo no humano.

[0051] El término "anticuerpo humano", como se utiliza en la presente, incluye los anticuerpos que tienen las regiones variables y constantes correspondientes a las secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana, como es descrito por Kabat y colaboradores (véase Kabat y colaboradores (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edición, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos, Publicación de NIH Número 91-3242). Los anticuerpos humanos de la invención pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por las

secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas mediante mutagénesis aleatoria o específica del sitio *in vitro*, o mediante mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en las regiones determinantes de complementariedad, y en particular en la CDR3. El anticuerpo humano puede tener cuando menos una posición reemplazada con un residuo de aminoácido, por ejemplo un residuo de aminoácido mejorador de la actividad que no sea codificado por la secuencia de inmunoglobulina de la línea germinal humana. En el contexto de la presente invención, el anticuerpo humano puede tener hasta 20 posiciones reemplazadas con residuos de aminoácidos que no sean parte de la secuencia de inmunoglobulina de la línea germinal humana. En otras realizaciones, se reemplazan hasta 10, hasta 5, hasta 3, o hasta 2 posiciones. Sin embargo, el término "anticuerpo humano", como se utiliza en la presente, no pretende incluir los anticuerpos en donde se hayan injertado secuencias de regiones determinantes de complementariedad derivadas a partir de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como un ratón, sobre las secuencias de estructura humanas.

[0052] La frase "anticuerpo humano recombinante" incluye los anticuerpos humanos que se preparan, se expresan, se crean, o se aíslan por medios recombinantes, tales como los anticuerpos expresados utilizando un vector de expresión recombinante transfectado en una célula hospedera, los anticuerpos aislados a partir de una biblioteca de anticuerpos humanos de combinación

recombinante, los anticuerpos aislados a partir de un animal que sea transgénico para los genes de inmunoglobulina humana, o los anticuerpos preparados, expresados, creados, o aislados por cualquier otro medio que involucre el empalme de las secuencias de genes de inmunoglobulina humana a otras secuencias de ADN. Estos anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes derivadas a partir de las secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (véase Kabat, E. A., y colaboradores (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Quinta Edición, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos, Publicación de NIH Número 91-3242). De conformidad con la presente invención, los anticuerpos humanos recombinantes incluyen la secuencia de inmunoglobulina de la línea germinal humana que se ha sometido a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se utiliza un animal transgénico para las secuencias de Ig humanas, mutagénesis somática *in vivo*), y por lo tanto, las secuencias de aminoácidos de las regiones VH y VL de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, aunque se derivan a partir de, y están relacionadas con, las secuencias de VH y VL de la línea germinal humana, pueden no existir naturalmente dentro del repertorio de la línea germinal de anticuerpos humanos *in vivo*. Sin embargo, en ciertas realizaciones, estos anticuerpos recombinantes son el resultado del planteamiento de mutagénesis selectiva o de retro-mutación, o ambas.

[0053] Los anticuerpos de la presente invención pueden ser anticuerpos aislados. Un "anticuerpo aislado", como se utiliza en la

presente, incluye un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tengan diferentes especificidades antigénicas. Más aún, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular y/o productos químicos.

5 **[0054]** Los anticuerpos de la presente invención de preferencia se enlazan específicamente con un antígeno de IL-6. Como se utiliza en la presente, "un antígeno de IL-6" pretende incluir, por ejemplo, la proteína de IL-6 completa, o un fragmento de la proteína de IL-6. El término "antígeno de IL-6" pretende abarcar la
10 IL-6 que se presenta naturalmente (por ejemplo, la IL-6 purificada a partir de una célula que exprese la IL-6 bajo condiciones normales), así como la IL-6 recombinante, y las variantes y los mutantes de la misma. De preferencia, el antígeno de IL-6 es capaz de enlazarse con el receptor de IL-6.

15 **[0055]** Un anticuerpo de la presente invención se enlaza específicamente con un antígeno de IL-6, por ejemplo, si el anticuerpo se enlaza con un antígeno de IL-6 y no muestra ningún enlaza significativo con moléculas que no sean de IL-6. En ciertas realizaciones, un anticuerpo se enlaza específicamente con un
20 antígeno de IL-6 si se enlaza con un antígeno de IL-6 con una afinidad que es cuando menos 1,000 veces, cuando menos 500 veces, cuando menos 200 veces, cuando menos 100 veces, cuando menos 90 veces, cuando menos 80 veces, cuando menos 70 veces, cuando menos 60 veces, cuando menos 50 veces, cuando menos 40
25 veces, cuando menos 30 veces, cuando menos 20 veces, cuando

menos 10 veces, o cuando menos 2 veces mayor que la afinidad con la cual se enlaza con un antígeno diferente de un antígeno de IL-6.

[0056] El que un anticuerpo de la invención se enlace o no específicamente con un antígeno de IL-6 se puede determinar, por ejemplo, mediante un ensayo de enlace, tal como un ELISA, empleando un panel de antígenos que incluyan un antígeno de IL-6, así como cuando menos otro antígeno que no sea de IL-6. Un método de ejemplo para evaluar la especificidad se estipula en el Ejemplo 5 que se encuentra más adelante. Aquí, se probó un anticuerpo anti-IL-6 humano de la invención (mAb 1339) mediante ELISA, para determinar su enlace con antígenos no relacionados, tales como insulina humana, albúmina de suero humano, hemoglobina humana, y albúmina de suero bovino. Debido a que no se observó enlace alguno con los antígenos que no eran de IL-6, se consideró que el mAb 1339 se enlaza específicamente con la IL-6.

[0057] En ciertas realizaciones, un anticuerpo de la presente invención se enlaza específicamente con IL-6, pero no con otros miembros de la súper-familia de IL-6. En ciertas realizaciones, un anticuerpo de la invención se enlaza específicamente con un antígeno de IL-6 si se enlaza con un antígeno de IL-6 con una afinidad que es cuando menos 1,000 veces, cuando menos 500 veces, cuando menos 200 veces, cuando menos 100 veces, cuando menos 90 veces, cuando menos 80 veces, cuando menos 70 veces, cuando menos 60 veces, cuando menos 50 veces, cuando menos 40 veces, cuando menos 30 veces, cuando menos 20 veces, cuando

menos 10 veces, o cuando menos 2 veces mayor que la afinidad con la cual se enlaza con un miembro de la súper-familia de IL-6, tal como, por ejemplo, CNFT, oncostatina M, IL-11, ó NNT-1. Por ejemplo, se demostró mediante ELISA que el mAb 1339 se enlaza con la IL-6, y mostró niveles insignificantes de enlace con CNFT, oncostatina M, IL-11, ó NNT-1. (Véanse el Ejemplo 5 y la Figura 5B). Se puede utilizar este o un ensayo similar para evaluar si cualquier anticuerpo se enlaza específicamente con un antígeno de IL-6.

[0058] En otras realizaciones, un anticuerpo de la invención se enlaza específicamente con un antígeno de IL-6 cuando la constante de disociación (K_d) es de aproximadamente 10^{-8} M. En ciertas realizaciones, se dice que el anticuerpo se enlaza específicamente con un antígeno de IL-6 con una "alta afinidad", cuando la K_d es de aproximadamente 5×10^{-9} M, y con una "muy alta afinidad" cuando la K_d es de aproximadamente 5×10^{-10} M.

[0059] El que un anticuerpo se enlace o no específicamente a un antígeno de IL-6 en el contexto de la presente invención, también se puede determinar mediante un ensayo funcional. Por ejemplo, se puede conducir un ensayo en donde las células que expresan el receptor de IL-6 se incuban con la IL-6 en la presencia de un anticuerpo de prueba. En un ensayo paralelo, las células que expresan otro receptor se incuban con el ligando para el receptor, en la presencia del anticuerpo de prueba. Si el anticuerpo muestra un efecto inhibitor en el primer ensayo (el cual incluye IL-6 y células que expresan al receptor de IL-6), pero no muestra un efecto

inhibidor en el segundo ensayo (el cual incluye un ligando diferente, y células que expresan el receptor para ese ligando), entonces se puede concluir que el anticuerpo se enlaza específicamente con un antígeno de IL-6. Los ensayos para determinar si un anticuerpo
5 inhibe o no los efectos biológicos del enlace de IL-6 con un receptor de IL-6 sobre las células, se discuten en cualquier otra parte de la presente. Por ejemplo, el Ejemplo 5 muestra la capacidad de los anticuerpos anti-IL-6 humana de la invención para inhibir la proliferación de células de mieloma humano inducida por IL-6.

10 **[0060]** En algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención inhiben la proliferación de células inducida por IL-6, tales como las células de mieloma de murino B9 (ECACC) o humano U266. En algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención inhiben la proliferación de células inducida por
15 IL-6, tales como de células de mieloma de murino B9 (ECACC), y humano U266, en un nivel de inhibición del 100 por ciento (es decir, completa). En algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención inhiben la proliferación de células inducida por IL-6, tales como las células de mieloma de murino B9 (ECACC) o humano U266,
20 en un nivel de inhibición del 90 por ciento o más. En algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención inhiben la proliferación de células inducida por IL-6, tales como las células de mieloma de murino B9 (ECACC) o humano U266, en un nivel de inhibición del 80 por ciento o más. En algunas realizaciones, los
25 anticuerpos de la presente invención inhiben la proliferación de

células inducida por IL-6, tales como las células de mieloma de murino B9 (ECACC) o humano U266, en un nivel del 70 por ciento o más, del 60 por ciento o más, del 50 por ciento o más, del 40 por ciento o más, del 30 por ciento o más, del 20 por ciento o más, del 10 por ciento o más, o del 5 por ciento o más, o del 1 por ciento o más.

[0061] En algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención se enlazan específicamente con la IL-6, inhibiendo el enlace de la IL-6 con su receptor. En algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención se enlazan específicamente con la IL-6, inhibiendo el enlace de la IL-6 con su receptor, en un nivel de inhibición del 100 por ciento (es decir, completa). En algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención se enlazan específicamente con la IL-6, inhibiendo el enlace de la IL-6 con su receptor en un nivel de inhibición del 90 por ciento o más. En algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención se enlazan específicamente con la IL-6, inhibiendo el enlace de la IL-6 con su receptor en un nivel de inhibición del 80 por ciento o más. En algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención se enlazan específicamente con la IL-6, inhibiendo el enlace de la IL-6 con su receptor en un nivel de inhibición del 70 por ciento o más, del 60 por ciento o más, del 50 por ciento o más, del 40 por ciento o más, del 30 por ciento o más, del 20 por ciento o más, del 10 por ciento o más, del 5 por ciento o más, o del 1 por ciento o más.

[0062] En algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención demuestran especificidad de la especie, enlazándose a, o ayudando en la detección de, la IL-6 humana. En algunas realizaciones, los anticuerpos monoclonales novedosos de la presente invención se enlazan a, o ayudan en la detección de, la IL-6 humana o de mono, pero no la IL-6 de murino o de rata.

[0063] Los anticuerpos humanos de la invención se pueden obtener mediante una variedad de métodos. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales humanos que se enlazan con la IL-6 se pueden seleccionar, por ejemplo, mediante el rastreo de una o más bibliotecas de ADNc de las VL y VH humanas con la IL-6 o una porción de la misma, tal como mediante técnicas de exhibición de fagos. (McCafferty y colaboradores, *Nature* 348:552-554 (1990)). Los anticuerpos humanos de la invención también se pueden obtener a partir de animales transgénicos, tales como, por ejemplo, ratones transgénicos. (Jakobovits, *Curr. Opin. Biotechnol.* 6:561-566 (1995)). La presente invención incluye anticuerpos anti-IL-6 humana que se obtienen mediante cualquier método conocido en la materia para la elaboración de anticuerpos humanos.

[0064] Los métodos de ejemplo que se pueden emplear para generar los anticuerpos de la invención se dan a conocer, por ejemplo, en la Publicación de la Solicitud de Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 2005/0196755, el contenido de la cual se incorpora como referencia en su totalidad.

[0065] Por consiguiente, la presente invención incluye

anticuerpos monoclonales que comprenden una región variable de cadena pesada humana (VH), en donde la VH humana, cuando se empareja con una región variable de cadena ligera (VL) de un anticuerpo monoclonal anti-IL-6 no humano (tal como, por ejemplo, B-E8), da como resultado un anticuerpo que se enlaza específicamente con un antígeno de IL-6.

[0066] La presente invención también incluye anticuerpos monoclonales que comprenden una región variable de cadena ligera humana (VL), en donde la VL humana, cuando se empareja con una región variable de cadena pesada (VH) de un anticuerpo monoclonal anti-IL-6 no humano (tal como, por ejemplo, B-E8), da como resultado un anticuerpo que se enlaza específicamente con un antígeno de IL-6. En ciertas realizaciones, la VL humana es del subtipo kappa (es decir, VK).

[0067] La presente invención también incluye anticuerpos monoclonales que comprenden una región variable de cadena pesada humana (VH), y una región variable de cadena ligera humana (VL), en donde la VH humana, cuando se empareja con una región variable de cadena ligera (VL) de un anticuerpo monoclonal anti-IL-6 no humano (tal como, por ejemplo, B-E8), da como resultado un anticuerpo que se enlaza específicamente a un antígeno de IL-6, y en donde la VL humana, cuando se empareja con una región variable de cadena pesada (VH) de un anticuerpo monoclonal anti-IL-6 no humano (tal como, por ejemplo, B-E8), da como resultado un anticuerpo que se enlaza específicamente a un antígeno de IL-6.

[0068] En ciertas realizaciones, los anticuerpos monoclonales de la invención comprenden una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en H415 (SEQ ID NO:19), H884 (SEQ ID NO:20), H1077 (SEQ ID NO:21), H1078 (SEQ ID NO:22), H1079 (SEQ ID NO:23), H1081 (SEQ ID NO:24), H1089 (SEQ ID NO:25), H1511 (SEQ ID NO:26), H1420 (SEQ ID NO:27), H1432 (SEQ ID NO:28), H1515 (SEQ ID NO:29), H1362 (SEQ ID NO:30), H1437 (SEQ ID NO:31), H1461 (SEQ ID NO:32), H1519 (SEQ ID NO:38), H1520 (SEQ ID NO:39), H1521 (SEQ ID NO:40), H1522 (SEQ ID NO:41), H1553 (SEQ ID NO:42), y H1579 (SEQ ID NO:43), en donde los anticuerpos se enlazan específicamente con un antígeno de IL-6.

[0069] En ciertas realizaciones, los anticuerpos monoclonales de la invención comprenden una región variable de cadena ligera (VL o VK) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en L112 (SEQ ID NO:1), L151 (SEQ ID NO:2), L158 (SEQ ID NO:3), L159 (SEQ ID NO:4), L164 (SEQ ID NO:5), L165 (SEQ ID NO:6), L166 (SEQ ID NO:7), L167 (SEQ ID NO:8), L168 (SEQ ID NO:9), L169 (SEQ ID NO:10), L170 (SEQ ID NO:11), L171 (SEQ ID NO:12), L172 (SEQ ID NO:13), L173 (SEQ ID NO:14), L174 (SEQ ID NO:15), L175 (SEQ ID NO:16), L189 (SEQ ID NO:17), L198 (SEQ ID NO:18), L314 (SEQ ID NO:33), L305 (SEQ ID NO:34), L303 (SEQ ID NO:35), L298 (SEQ ID NO:36), y L321 (SEQ ID NO:37), en donde los anticuerpos

se enlazan específicamente con un antígeno de IL-6.

[0070] Será entendido por una persona de una experiencia ordinaria en este campo, que "anticuerpos que comprenden una región variable de cadena pesada (VH)" y "anticuerpos que comprenden una región variable de cadena ligera (VL ó VK)", como se describen en el contexto de la presente invención, puede incluir una o más regiones adicionales (o "dominios") que se encuentren normalmente en las moléculas de anticuerpo, tales como, por ejemplo, una o más regiones constantes de cadena pesada (por ejemplo, CH1, CH2, y/o CH3), y/o una región constante de cadena ligera (CL).

[0071] Los anticuerpos de la invención, en ciertas realizaciones, pueden comprender una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 40 por ciento, cuando menos el 45 por ciento, cuando menos el 50 por ciento, cuando menos el 55 por ciento, cuando menos el 60 por ciento, cuando menos el 65 por ciento, cuando menos el 70 por ciento, cuando menos el 75 por ciento, cuando menos el 80 por ciento, cuando menos el 81 por ciento, cuando menos el 82 por ciento, cuando menos el 83 por ciento, cuando menos el 84 por ciento, cuando menos el 85 por ciento, cuando menos el 86 por ciento, cuando menos el 87 por ciento, cuando menos el 88 por ciento, cuando menos el 89 por ciento, cuando menos el 90 por ciento, cuando menos el 91 por ciento, cuando menos el 92 por ciento, cuando menos el 93 por ciento,

cuando menos el 94 por ciento, cuando menos el 95 por ciento,
 cuando menos el 96 por ciento, cuando menos el 97 por ciento,
 cuando menos el 98 por ciento, o cuando menos el 99 por ciento
 idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs:19 a 32 ó 38 a 43, en donde
 5 los anticuerpos se enlazan específicamente con un antígeno de IL-6.

[0072] Los anticuerpos de la invención, en ciertas
 realizaciones, pueden comprender una región variable de cadena
 ligera (VL ó VK) que comprende una secuencia de aminoácidos que
 es cuando menos el 40 por ciento, cuando menos el 45 por ciento,
 10 cuando menos el 50 por ciento, cuando menos el 55 por ciento,
 cuando menos el 60 por ciento, cuando menos el 65 por ciento,
 cuando menos el 70 por ciento, cuando menos el 75 por ciento,
 cuando menos el 80 por ciento, cuando menos el 81 por ciento,
 cuando menos el 82 por ciento, cuando menos el 83 por ciento,
 15 cuando menos el 84 por ciento, cuando menos el 85 por ciento,
 cuando menos el 86 por ciento, cuando menos el 87 por ciento,
 cuando menos el 88 por ciento, cuando menos el 89 por ciento,
 cuando menos el 90 por ciento, cuando menos el 91 por ciento,
 cuando menos el 92 por ciento, cuando menos el 93 por ciento,
 20 cuando menos el 94 por ciento, cuando menos el 95 por ciento,
 cuando menos el 96 por ciento, cuando menos el 97 por ciento,
 cuando menos el 98 por ciento, o cuando menos el 99 por ciento
 idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs:1 a 18 ó 33 a 37, en donde
 los anticuerpos se enlazan específicamente con un antígeno de IL-6.

25 **[0073]** El término "idéntica" como se utiliza en la presente,

se refiere a una relación entre las secuencias de dos o más moléculas de polipéptido, determinada mediante la alineación y comparación de las secuencias. "Porcentaje de identidad" significa el porcentaje de residuos idénticos entre los aminoácidos en las moléculas comparadas, y se calcula basándose en el tamaño de la más pequeña de las moléculas que se están comparando. Para estos cálculos, se deben dirigir huecos en las alineaciones (en su caso) mediante un modelo matemático particular o programa de computación (es decir, un "algoritmo"). Los métodos que se pueden emplear para calcular la identidad de los polipéptidos alineados incluyen aquéllos descritos en Computational Molecular Biology, (Lesk, A. M., Editor), 1988, Nueva York: Oxford University Press; Biocomputing Informatics and Genome Projects, (Smith, D. W., Editor), 1993, Nueva York: Academic Press; Computer Analysis of Sequence Data, Parte I, (Griffin, A. M., y Griffin, H. G., Editores), 1994, Nueva Jersey: Humana Press; von Heinje, G., 1987, Sequence Analysis in Molecular Biology, Nueva York: Academic Press; Sequence Analysis Primer (Gribskov, M. y Devereux, J., Editores), 1991, Nueva York: M. Stockton Press; y Carillo y colaboradores, 1988, SIAM J. Applied Math. 48:1073.

[0074] En el cálculo del porcentaje de identidad, las secuencias que se están comparando se alinean de una manera que dé el mayor acoplamiento entre las secuencias. El programa de computación utilizado para determinar el porcentaje de identidad debe ser el paquete del programa GCG, el cual incluye GAP

(Devereux y colaboradores, 1984, *Nucl. Acid Res.* 12:387; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, Wisc.). El algoritmo de computación GAP se utiliza para alinear los dos polipéptidos para los cuales se va a determinar el porcentaje de identidad de secuencias. Las secuencias se alinean para un acoplamiento óptimo de sus aminoácidos respectivos (el "lapso emparejado", como sea determinado por el algoritmo). En conjunto con el algoritmo, se utilizan una multa de abertura de hueco (que se calcula como tres veces la diagonal promedio, en donde la "diagonal promedio" es el promedio de la diagonal de la matriz de comparación que se está utilizando; la "diagonal" es el puntaje o número asignado a cada emparejamiento perfecto de aminoácidos por la matriz de comparación particular), y una multa de extensión de hueco (que usualmente es 1/10 veces la multa de abertura de hueco), así como una matriz de comparación, tal como PAM 250 ó BLOSUM 62. En ciertas realizaciones, el algoritmo también utiliza una matriz de comparación estándar (véase Dayhoff y colaboradores, 1978, *Atlas of Protein Sequence and Structure* 5:345-352 para la matriz de comparación PAM 250; Henikoff y colaboradores, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA* 89: 10915-10919 para la matriz de comparación BLOSUM 62).

[0075] Los parámetros recomendados para determinar el porcentaje de identidad para los polipéptidos utilizando el programa GAP son los siguientes:

25 Algoritmo: Needleman y colaboradores, 1970, *J. Mol. Biol.*

48:443-453;

Matriz de comparación: BLOSUM 62 de Henikoff y colaboradores, 1992, *supra*;

Multa de hueco: 12 (pero sin multa por huecos de extremo);

5 Multa de longitud de hueco: 4;

Umbral de similitud: 0.

[0076] Ciertos esquemas de alineación para alinear dos secuencias de aminoácidos pueden dar como resultado un emparejamiento de solamente una región corta de las dos secuencias, y esta pequeña región alineada puede tener una identidad de secuencias muy alta, inclusive cuando no haya una relación significativa entre las dos secuencias de longitud completa. De conformidad con lo anterior, se puede ajustar el método de alineación seleccionado (programa GAP) si así se desea, para dar como resultado una alineación que se extienda por cuando menos 50 aminoácidos contiguos del polipéptido objetivo.

[0077] Se contemplan modificaciones de secuencias de aminoácidos de los anticuerpos anti-IL-6 descritos en la presente. Por ejemplo, puede ser deseable mejorar la afinidad de enlace y/u otras propiedades biológicas de los anticuerpos anti-IL-6.

[0078] Las variantes de secuencias de aminoácidos de los anticuerpos anti-IL-6 se pueden preparar mediante la introducción de los cambios de nucleótidos apropiados en un ácido nucleico que codifique las cadenas pesada o ligera del anticuerpo, o mediante síntesis de péptidos. Las modificaciones de ejemplo incluyen

aquellas que alteren la secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena pesada y/o ligera del anticuerpo. Se prefieren en especial las modificaciones que alteren la secuencia de aminoácidos de una o más regiones determinantes de complementariedad de una región variable de una cadena pesada y/o ligera de un anticuerpo de la invención.

[0079] Las modificaciones de ejemplo incluyen, por ejemplo, supresiones de, y/o inserciones en, y/o sustituciones de, los residuos dentro de las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos anti-IL-6. Se hace cualquier combinación de supresión, inserción, y sustitución para llegar a la construcción final, en el entendido de que la construcción final posea las características deseadas (por ejemplo, la capacidad para formar parte de un anticuerpo que se enlace específicamente a un antígeno de IL-6). Los cambios de aminoácidos también pueden alterar los procesos posteriores a la traducción de los anticuerpos anti-IL-6, tales como cambiar el número o la posición de los sitios de glicosilación.

[0080] Un método de ejemplo para introducir cambios de aminoácidos en las regiones VH y VL de los anticuerpos de la invención se ilustra en el Ejemplo 2 más adelante. De acuerdo con este método, se introduce NNK en las posiciones específicas, por ejemplo, dentro de una región determinante de complementariedad de una VH ó VL, en donde N puede ser A, T, G, ó C, y K es T ó G. Utilizando NNK, se pueden introducir los 20 aminoácidos y un codón de paro en cada posición.

[0081] Otro método útil para la identificación de ciertos residuos o regiones de las regiones variables de cadena pesada y de las regiones variables de cadena ligera del anticuerpo anti-IL-6 que son localizaciones preferidas para la mutagénesis, se denomina como "mutagénesis de exploración de alanina", como es descrita por Cunningham y Wells, *Science* 244:1081-1085 (1989). Aquí, se identifica un residuo o un grupo de residuos objetivo (por ejemplo, residuos cargados, tales como arg, asp, his, lys, y glu), y es reemplazado por un aminoácido neutro o negativamente cargado (más preferiblemente, alanina o polialanina). Entonces se refinan las localizaciones de aminoácidos que demuestren una sensibilidad funcional a las sustituciones, mediante la introducción de variantes adicionales en, o para, los sitios de sustitución. Por consiguiente, aunque se determina previamente el sitio para introducir una variación de secuencia de aminoácidos, no se necesita determinar previamente la naturaleza de la mutación por sí misma. Por ejemplo, con el fin de analizar el desempeño de una mutación en un sitio dado, se conduce la exploración de alanina o la mutagénesis aleatoria en el codón o región objetivo, y se rastrean las variantes de VH y/o las variantes de VL para determinar la actividad deseada al combinarse con una cadena ligera variable o con una cadena pesada variable, respectivamente.

[0082] Las inserciones de secuencias de aminoácidos incluyen fusiones amino- y/o carboxi-terminales, en el intervalo de longitud desde un residuo hasta polipéptidos que contengan 100 o

más residuos, así como inserciones intra-secuencia de un solo o múltiples residuos de aminoácidos. Los ejemplos de las inserciones terminales incluyen una VH anti-IL-6 o una VL anti-IL-6 con un residuo de metionilo N-terminal, o una VH anti-IL-6 o una VL anti-IL-6 fusionada a un péptido citotóxico.

[0083] Otro tipo de variante es una variante de sustitución de aminoácidos. Estas variantes tienen cuando menos un residuo de aminoácido en la molécula de VH ó VL reemplazado por un residuo diferente. Los sitios de mayor interés para la mutagénesis de sustitución de las regiones VH y VL de los anticuerpos anti-IL-6 de la invención incluyen las regiones híper-variables, pero también se contemplan alteraciones en las regiones de estructura.

[0084] En la Tabla 1 se muestran sustituciones conservadoras bajo el encabezado de "sustituciones preferidas". Si estas sustituciones dan como resultado un cambio en la actividad biológica, entonces se pueden introducir más cambios sustanciales, denominados como "sustituciones de ejemplo" en la Tabla 1, o como se describe más adelante con referencia a las clases de aminoácidos, y se rastrean los productos.

Tabla 1

	Residuo Original	Sustituciones de Ejemplo	Sustituciones Preferidas
5	Ala (A)	val; leu; ile	val
	Arg (R)	lys; gln; asn	lys
	Asn (N)	gln; his; asp; lys; arg	gln
10	Asp (D)	glu; asn;	glu
	Cys (C)	ser; ala	ser
	Gln (Q)	asn; glu	asn
	Glu (E)	asp; gln	asp
15	Gly (G)	ala	ala
	His (H)	asn, gln, lys, arg	arg
	Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; norleucina	leu
20	Leu (L)	norleucina; ile; val; met; ala; phe	ile
	Lys (K)	arg; gln; asn	arg
	Met (M)	leu; phe; ile	leu
25	Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	tyr

5

10

Residuo Original	Sustituciones de Ejemplo	Sustituciones Preferidas
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Tpr (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; norleucina	leu

15

20

25

[0085] Se pueden llevar a cabo modificaciones sustanciales en las propiedades biológicas de los anticuerpos anti-IL-6 de la invención, mediante la selección de sustituciones que difieran de una manera significativa en su efecto sobre el mantenimiento de: (a) la estructura base del polipéptido en el área de la sustitución, por ejemplo, como una conformación de hoja o de hélice, (b) la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio objetivo, o (c) el volumen de la cadena lateral. Los residuos que se presentan naturalmente están divididos en grupos, basándose en las propiedades comunes de la cadena lateral:

- (1) hidrofóbicos: norleucina, met, ala, val, leu, ile;
- (2) hidrofílicos neutros: cys, ser, thr;
- (3) ácidos: asp, glu;

(4) básicos: asn, gln, his, lys, arg;

(5) residuos que tienen influencia sobre la orientación de la cadena: gly, pro; y

(6) aromáticos: trp, tyr, phe.

5 [0086] Las sustituciones no conservadoras implicarán el intercambio de un miembro de una de estas clases por otra clase.

10 [0087] Cualquier residuo de cisteína no involucrado en el mantenimiento de la conformación apropiada del anticuerpo anti-IL-6, también puede ser sustituido, en general con serina, para mejorar la estabilidad oxidativa de la molécula, y prevenir una reticulación aberrante. Inversamente, se pueden agregar enlaces de cisteína al anticuerpo anti-IL-6 para mejorar su estabilidad (en particular en donde el anticuerpo anti-IL-6 sea un fragmento de anticuerpo, tal como un fragmento Fv).

15 [0088] Un tipo particularmente preferido de variante de sustitución involucra la sustitución de uno o más residuos de la región hiper-variable de un anticuerpo progenitor. En términos generales, las variantes resultantes seleccionadas para un desarrollo adicional tendrán mejores propiedades biológicas en relación con el anticuerpo progenitor a partir del cual se generan (por ejemplo, mejor afinidad por un antígeno de IL-6). Un método de ejemplo para generar estas variantes de sustitución es la maduración por afinidad utilizando exhibición de fagos. Brevemente, se mutan varios sitios de la región hiper-variable (por ejemplo, de 6 a 7 sitios), para generar
20
25 todas las sustituciones de aminoácidos posibles en cada sitio. Las

variantes de anticuerpo así generadas se exhiben en una forma monovalente a partir de las partículas de fagos filamentosas como fusiones con el producto del gen III de M13 empacado dentro de cada partícula. Las variantes con los fagos exhibidos se rastrean
5 entonces para determinar su actividad biológica (por ejemplo, su afinidad de enlace), como se da a conocer en la presente. Con el objeto de identificar los sitios de la región híper-variable candidatos para la modificación, se puede llevar a cabo una mutagénesis de exploración de alanina para identificar los residuos de la región
10 híper-variable que contribuyan de una manera significativa al enlace del antígeno. De una manera alternativa, o en adición, puede ser benéfico analizar una estructura de cristal del complejo de antígeno-anticuerpo para identificar los puntos de contacto entre el anticuerpo y el antígeno. Estos residuos de contacto y los residuos vecinos son
15 candidatos para las sustitución de acuerdo con las técnicas elaboradas en la presente. Una vez que se generan estas variantes, el panel de variantes se somete a rastreo como se describe en la presente, y se pueden seleccionar los anticuerpos con propiedades superiores en uno o más ensayos pertinentes para su desarrollo
20 adicional.

[0089] Otro tipo de variante de aminoácidos de los anticuerpos anti-IL-6 estipulados en la presente, altera el patrón de glicosilación original de los anticuerpos anti-IL-6. Esta alteración incluye la supresión de una o más fracciones de carbohidrato
25 encontradas en el anticuerpo anti-IL-6, y/o agregar uno o más sitios

de glicosilación que no estén presentes en el anticuerpo anti-IL-6.

[0090] La glicosilación de polipéptidos típicamente es N-enlazada u O-enlazadas. N-enlazada se refiere a la unión de la fracción de carbohidrato a la cadena lateral del residuo de asparagina. Las secuencias de tripéptidos de asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, en donde X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática de la fracción de carbohidrato con la cadena lateral de asparagina. Por consiguiente, la presencia de cualquiera de estas secuencias de tripéptidos en un polipéptido crea un sitio de glicosilación potencial. La glicosilación O-enlazada se refiere a la unión de uno de los azúcares de N-acetil-galactosamina, galactosa, o xilosa, a un hidroxí-aminoácido, más comúnmente serina o treonina, aunque también se pueden utilizar 5-hidroxí-prolina o 5-hidroxí-lisina.

[0091] La adición de sitios de glicosilación a un anticuerpo anti-IL-6 se lleva a cabo convenientemente mediante la alteración de la secuencia de aminoácidos, de tal manera que contenga una o más de las secuencias de tripéptido anteriormente descritas (para los sitios de glicosilación N-enlazados). La alteración también se puede hacer mediante la adición de, o la sustitución por, uno o más residuos de serina o treonina a la secuencia del anticuerpo anti-IL-6 original (para los sitios de glicosilación O-enlazados).

[0092] Los dominios VH incluidos en los anticuerpos de la invención, en ciertas realizaciones, pueden comprender una secuencia de aminoácidos que sea idéntica a cualquiera de las SEQ

ID NOs:19 a 32 ó 38 a 43, excepto por una sustitución de 1 a 20 aminoácidos. Por ejemplo, la VH puede tener una secuencia de aminoácidos que sea idéntica a las SEQ ID NOs:19 a 32 ó 38 a 43, excepto por una sustitución de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, ó 20 aminoácidos. Las sustituciones pueden estar en cualquier posición dentro de la secuencia encontrada en las SEQ ID NOs:19 a 32 ó 38 a 43. En ciertas realizaciones, las sustituciones están dentro de una o más regiones determinantes de complementariedad del dominio de VH. Por ejemplo, las sustituciones pueden estar dentro de las CDR1, CDR2, y/o CDR3.

[0093] De la misma manera, los dominios VL incluidos en los anticuerpos de la invención, en ciertas realizaciones, pueden comprender una secuencia de aminoácidos que sea idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs:1 a 18 ó 33 a 37, excepto por la sustitución de 1 a 20 aminoácidos. Por ejemplo, la VL puede tener una secuencia de aminoácidos que sea idéntica a las SEQ ID NOs:1 a 18 ó 33 a 37, excepto por una sustitución de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, ó 20 aminoácidos. Las sustituciones pueden estar en cualquier posición dentro de la secuencia encontrada en las SEQ ID NOs:1 a 18 ó 33 a 37. En ciertas realizaciones, las sustituciones están dentro de una o más regiones determinantes de complementariedad del dominio VL. Por ejemplo, las sustituciones pueden estar dentro de las CDR1, CDR2, y/o CDR3.

[0094] Los anticuerpos anti-IL-6 de la presente invención,

que comprendan una región VH que difiera de las SEQ ID NOs:19 a 32 ó 38 a 43 en uno o más residuos de aminoácidos, y/o una región VL que difiera de las SEQ ID NOs:1 a 18 ó 33 a 37 en uno o más residuos de aminoácidos, de preferencia retendrán la capacidad para enlazarse específicamente con un antígeno de IL-6.

[0095] La presente invención incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden un dominio VH, en donde VH comprende cualquiera de las CDR1s estipuladas en la Tabla 2:

10

Tabla 2

Secuencias VH CDR1 de ejemplo

15

20

Secuencia VH CDR1	SEQ ID NO:
TSGMCVS	51
TSGVAVG	52
TSGVSVG	53
TSGVGVG	54
TSGVAVN	55

[0096] La invención incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden un dominio VH, en donde VH comprende una CDR1 variante que tiene una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs:51 a 55, excepto que uno o más (por

ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, ó 7) de los aminoácidos de las SEQ ID
NOs:51 a 55 es reemplazado con cualquier otro aminoácido. De una
manera preferible, los anticuerpos anti-IL-6 que comprendan una
CDR1 variante, se enlazarán específicamente con un antígeno de IL-
5 6.

[0097] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6
que comprenden un dominio VH, en donde VH comprende cualquiera
de las CDR2s estipuladas en la Tabla 3.

10

Tabla 3
Secuencias VH CDR2 de ejemplo

15

20

Secuencia VH CDR2	SEQ ID NO:
LIYWDDDDKRYNPSLRS	56
LIFWDDDDKHYSPLKS	57
LVYWDDDDRRYNPSLKN	58
LIYWDDDDKRYSPSLKN	59
FIFWDDDDKYYSLES	60
VIYWDDDDRRYSPSLSS	61
LIYWDDDDKRYSPSLET	97

25

[0098] La invención incluye anticuerpos anti-IL-6 que

comprenden un dominio VH, en donde VH comprende una CDR2 variante que tiene una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs:56 a 61 ó 97, excepto que uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, ó 16) de los aminoácidos de las SEQ ID NOs:56 a 61 ó 97, es reemplazado con cualquier otro aminoácido. De una manera preferible, los anticuerpos anti-IL-6 que comprendan una CDR2 variante, se enlazarán específicamente con un antígeno de IL-6.

[0099] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden un dominio VH, en donde VH comprende cualquiera de las CDR3s estipuladas en la Tabla 4:

Tabla 4
Secuencias VH CDR3 de ejemplo

Secuencia VH CDR3	SEQ ID NO:
SYDDYLYYALDY	62
FYDDYLYYALDY	63
SADDYLYYALDY	64
SGDDYLYYALDY	65
SYDDYLMYALDY	66
SYDDYLYYSLDY	67

5

10

Secuencia VH CDR3	SEQ ID NO:
SYDDYLYYAFDY	68
SYDDYLYYALDT	69
SADDYLYYSLDY	70
SADDYLYYAFDY	71
SADDYLYYSFDY	72
SADDYLYYSFDT	73
SHDDYLYYALDY	98

15

20

25

[00100] La invención incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden un dominio VH, en donde VH comprende una CDR3 variante que tiene una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs:62 a 73 ó 98, excepto que uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, ó 12) de los aminoácidos de las SEQ ID NOs:62 a 73 ó 98, es reemplazado con cualquier otro aminoácido. De una manera preferible, los anticuerpos anti-IL-6 que comprendan una CDR3 variante, se enlazarán específicamente a un antígeno de IL-6.

[00101] En adición, la presente invención incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden un dominio VL, en donde VL comprende cualquiera de las CDR1s estipuladas en la Tabla 5:

Tabla 5
Secuencias VL CDR1 de ejemplo

Secuencia VL CDR1	SEQ ID NO:
RASQTIDSSYLA	74
RASQDIDNFLA	75
RASQTISSYLN	76
RASQSISIYLN	77
RASQTISDFLN	78
WASQSINDYLN	79

[00102] La invención incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden un dominio VL, en donde VL comprende una CDR1 variante que tiene una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs:74 a 79, excepto que uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, ó 12) de los aminoácidos de las SEQ ID NO:74 a 79, es reemplazado con cualquier otro aminoácido. De una manera preferible, los anticuerpos anti-IL-6 que comprendan una CDR1 variante, se enlazarán específicamente a un antígeno de IL-6.

[00103] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden un dominio VL, en donde VL comprende cualquiera

75

de las CDR2s estipuladas en la Tabla 6:

Tabla 6
Secuencias VL CDR2 de ejemplo

Secuencia VL CDR2	SEQ ID NO:
GASSRAT	80
KVSSLRS	81
AASSLES	82
ATSTLQS	83
ASSNLQS	84
AASNLQI	85

[00104] La invención incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden un dominio VL, en donde VL comprende una CDR2 variante que tiene una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs:80 a 85, excepto que uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, ó 7) de los aminoácidos de las SEQ ID NOs:80 a 85, es reemplazado con cualquier otro aminoácido. De una manera preferible, los anticuerpos anti-IL-6 que comprendan una CDR2 variante, se enlazarán específicamente a un antígeno de IL-6.

[00105] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden un dominio VL, en donde VL comprende cualquiera

de las CDR3s estipuladas en la Tabla 7:

Tabla 7
Secuencias VL CDR3 de ejemplo

5	Secuencia de VL CDR3	SEQ ID NO:
	QQYAKSPIT	86
	QQTRRFPLT	87
10	QQANSFPLT	88
	QQTYRNLFT	89
	QQTYSTLGT	90
	QNGHSFPLT	91
15	QSGHSFPLT	92
	QHGHSFPLT	93
	QLGHSFPLT	94
20	QNAHSFPLT	95
	QNGWSFPLT	96

[00106] La invención incluye anticuerpos anti-IL-6 que
25 comprenden un dominio VL, en donde VL comprende una CDR3

variante que tiene una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs:86 a 96, excepto que uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, ó 9) de los aminoácidos de las SEQ ID NOs:86 a 96, es reemplazado con cualquier otro aminoácido. De una
5 manera preferible, los anticuerpos anti-IL-6 que comprendan una CDR3 variante, se enlazarán específicamente a un antígeno de IL-6.

[00107] Como se muestra en el Ejemplo 1, las regiones variables de cadena pesada humanas de la primera generación (VHs) identificadas mediante el rastreo de una biblioteca de VHs humanas,
10 comparten una identidad de secuencias significativa unas con otras. Las identidades de secuencias de aminoácidos entre las VHs humanas se muestran en la Tabla 10, y se ilustran en la Figura 1. Por ejemplo, las CDR1s de las VHs humanas identificadas comparten todas la secuencia de aminoácidos T-S-G-X₁-X₂-V-X₃ (SEQ ID
15 NO:99). Adicionalmente, las CDR2s de las VHs humanas identificadas comparten todas la secuencia de aminoácidos X₁-X₂-X₃-W-D-D-D-X₄-X₅-Y-X₆-P-S-L-X₇-X₈ (SEQ ID NO:100).

[00108] Por consiguiente, la invención incluye anticuerpos monoclonales que comprenden una CDR1 de cadena pesada variable
20 (VH-CDR1) que tiene la secuencia de aminoácidos T-S-G-X₁-X₂-V-X₃ (SEQ ID NO:99), en donde X₁, X₂, y X₃ pueden ser cualquier aminoácido. Por ejemplo, X₁, X₂, y/o X₃ pueden ser isoleucina (I), leucina (L), valina (V), fenil-alanina (P), metionina (M), cisteína (C), alanina (A), glicina (G), prolina (P), treonina (T), serina (S), tirosina
25 (Y), triptófano (W), glutamina (Q), asparagina (N), histidina (H),

ácido glutámico (E), ácido aspártico (D), lisina (K), o arginina (R). En una realización de ejemplo, X_1 es metionina (M) o valina (V). En otra realización de ejemplo, X_1 es valina (V). En otra realización de ejemplo, X_2 es cisteína (C), alanina (A), serina (S), o glicina (G). En otra realización de ejemplo, X_3 es serina (S) o glicina (G). De una manera preferible, los anticuerpos de la invención que comprendan una VH-CDR1 que tenga la secuencia de aminoácidos de T-S-G- X_1 - X_2 -V- X_3 (SEQ ID NO:99), se enlazan específicamente con un antígeno de IL-6.

10 [00109] La invención también incluye anticuerpos monoclonales que comprenden una CDR2 de cadena pesada variable (VH-CDR2), que tiene la secuencia de aminoácidos X_1 - X_2 - X_3 -W-D-D-D- X_4 - X_5 -Y- X_6 -P-S-L- X_7 - X_8 (SEQ ID NO:100), en donde X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_5 , X_6 , X_7 y X_8 pueden ser cualquier aminoácido. Por ejemplo, X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_5 , X_6 , X_7 y/o X_8 pueden ser isoleucina (I), leucina (L), valina (V), fenil-alanina (P), metionina (M), cisteína (C), alanina (A), glicina (G), prolina (P), treonina (T), serina (S), tirosina (Y), triptófano (W), glutamina (Q), asparagina (N), histidina (H), ácido glutámico (E), ácido aspártico (D), lisina (K), o arginina (R). En una realización de ejemplo, X_1 es leucina (L), fenil-alanina (F) o valina (V). En otra realización de ejemplo, X_1 es leucina (L). En otra realización de ejemplo, X_2 es isoleucina (I) o valina (V). En otra realización de ejemplo, X_2 es isoleucina (I). En otra realización de ejemplo, X_3 es tirosina (Y) o fenil-alanina (F). En otra realización de ejemplo, X_4 es lisina (K) o arginina (R). En otra realización de ejemplo, X_5 es

arginina (R), tirosina (Y), o histidina (H). En otra realización de ejemplo, X₆ es serina (S) o asparagina (N). En otra realización de ejemplo, X₆ es serina (S). En otra realización de ejemplo, X₇ es arginina (R), lisina (K), ácido glutámico (E) o serina (S). En otra
5 realización de ejemplo, X₇ es lisina (K). En otra realización de ejemplo, X₈ es serina (S) o asparagina (N). De una manera preferible, los anticuerpos de la invención que comprendan una VH-CDR2 que tenga la secuencia de aminoácidos X₁-X₂-X₃-W-D-D-D-X₄-X₅-Y-X₆-P-S-L-X₇-X₈ (SEQ ID NO:100), se enlazan específicamente
10 con un antígeno de IL-6.

[00110] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden un dominio VL, en donde VL es idéntico a cualquiera de las SEQ ID NOs:1 a 18 ó 33 a 37, excepto que uno o más de los aminoácidos que no son de la región determinante de
15 complementariedad (por ejemplo, que son de la región de estructura) de las SEQ ID NOs:1 a 18 ó 33 a 37, es reemplazado con cualquier otro aminoácido. La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden un dominio VH, en donde VH es idéntico a cualquiera de las SEQ ID NOs:19 a 32 ó 38 a 43, excepto que uno o
20 más de los aminoácidos que no son de la región determinante de complementariedad (por ejemplo, son de la región de estructura) de las SEQ ID NOs:19 a 32 ó 38 a 43, es reemplazado con cualquier otro aminoácido. De una manera preferible, los anticuerpos anti-IL-6 que comprendan uno o más cambios de aminoácidos en las regiones
25 de estructura de las secuencias de VH y/o VK, se enlazarán

específicamente con un antígeno de IL-6.

[00111] La invención incluye anticuerpos que comprenden cualquier combinación de:

5 (1) una región variable de cadena pesada (VH) estipulada en la presente, o una VH que comprende una o más regiones determinantes de complementariedad estipuladas en la presente; y

(2) una región variable de cadena ligera (VL) estipulada en la presente, o una VL que comprende una o más regiones determinantes de complementariedad estipuladas en la presente.

10 **[00112]** Por ejemplo, la invención incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H415 (SEQ ID NO:19) y L112 (SEQ ID NO:1); H415 (SEQ ID NO:19) y L151 (SEQ ID NO:2); H415 (SEQ ID NO:19) y L158 (SEQ ID NO:3); H415 (SEQ ID NO:19) y L159 (SEQ ID NO:4); H415 (SEQ ID NO:19) y L164 (SEQ ID NO:5); H415 (SEQ ID NO:19) y L165 (SEQ ID NO:6); H415 (SEQ ID NO:19) y L166 (SEQ ID NO:7); H415 (SEQ ID NO:19) y L167 (SEQ ID NO:8); H415 (SEQ ID NO:19) y L168 (SEQ ID NO:9); H415 (SEQ ID NO:19) y L169 (SEQ ID NO:10); H415 (SEQ ID NO:19) y L170 (SEQ ID NO:11); H415 (SEQ ID NO:19) y L171 (SEQ ID NO:12); H415 (SEQ ID NO:19) y L172 (SEQ ID NO:13); H415 (SEQ ID NO:19) y L173 (SEQ ID NO:14); H415 (SEQ ID NO:19) y L174 (SEQ ID NO:15); H415 (SEQ ID NO:19) y L175 (SEQ ID NO:16); H415 (SEQ ID NO:19) y L189 (SEQ ID NO:17); H415 (SEQ ID NO:19) y L198 (SEQ ID NO:18); H415 (SEQ ID NO:19) y L314 (SEQ ID NO:33); H415 (SEQ ID NO:19) y L305

15

20

25

(SEQ ID NO:34); H415 (SEQ ID NO:19) y L303 (SEQ ID NO:35); H415 (SEQ ID NO:19) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H415 (SEQ ID NO:19) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00113] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6
 5 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H884 (SEQ ID NO:20) y L112 (SEQ ID NO:1); H884 (SEQ ID NO:20) y L151 (SEQ ID NO:2); H884 (SEQ ID NO:20) y L158 (SEQ ID NO:3); H884 (SEQ ID NO:20) y L159 (SEQ ID NO:4); H884 (SEQ ID NO:20) y L164 (SEQ ID NO:5); H884 (SEQ ID NO:20) y L165 (SEQ ID NO:6); H884 (SEQ ID NO:20) y L166 (SEQ ID NO:7); H884 (SEQ ID NO:20) y L167 (SEQ ID NO:8); H884 (SEQ ID NO:20) y L168 (SEQ ID NO:9); H884 (SEQ ID NO:20) y L169 (SEQ ID NO:10); H884 (SEQ ID NO:20) y L170 (SEQ ID NO:11); H884 (SEQ ID NO:20) y L171 (SEQ ID NO:12); H884 (SEQ ID NO:20) y L172
 10 (SEQ ID NO:13); H884 (SEQ ID NO:20) y L173 (SEQ ID NO:14); H884 (SEQ ID NO:20) y L174 (SEQ ID NO:15); H884 (SEQ ID NO:20) y L175 (SEQ ID NO:16); H884 (SEQ ID NO:20) y L189 (SEQ ID NO:17); H884 (SEQ ID NO:20) y L198 (SEQ ID NO:18); H884 (SEQ ID NO:20) y L314 (SEQ ID NO:33); H884 (SEQ ID NO:20) y L305
 15 (SEQ ID NO:34); H884 (SEQ ID NO:20) y L303 (SEQ ID NO:35); H884 (SEQ ID NO:20) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H884 (SEQ ID NO:20) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00114] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6
 20 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1077 (SEQ ID NO:21) y L112 (SEQ ID NO:1); H1077 (SEQ ID NO:21) y L151 (SEQ ID NO:2); H1077 (SEQ ID NO:21) y L158 (SEQ ID NO:3); H1077 (SEQ ID NO:21) y L159 (SEQ ID NO:4); H1077 (SEQ ID NO:21) y L164 (SEQ ID NO:5); H1077 (SEQ ID NO:21) y L165 (SEQ ID NO:6); H1077 (SEQ ID NO:21) y L166 (SEQ ID NO:7); H1077 (SEQ ID NO:21) y L167 (SEQ ID NO:8); H1077 (SEQ ID NO:21) y L168 (SEQ ID NO:9); H1077 (SEQ ID NO:21) y L169 (SEQ ID NO:10); H1077 (SEQ ID NO:21) y L170 (SEQ ID NO:11); H1077 (SEQ ID NO:21) y L171 (SEQ ID NO:12); H1077 (SEQ ID NO:21) y L172
 25 (SEQ ID NO:13); H1077 (SEQ ID NO:21) y L173 (SEQ ID NO:14); H1077 (SEQ ID NO:21) y L174 (SEQ ID NO:15); H1077 (SEQ ID NO:21) y L175 (SEQ ID NO:16); H1077 (SEQ ID NO:21) y L189 (SEQ ID NO:17); H1077 (SEQ ID NO:21) y L198 (SEQ ID NO:18); H1077 (SEQ ID NO:21) y L314 (SEQ ID NO:33); H1077 (SEQ ID NO:21) y L305 (SEQ ID NO:34); H1077 (SEQ ID NO:21) y L303 (SEQ ID NO:35); H1077 (SEQ ID NO:21) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H1077 (SEQ ID NO:21) y L321 (SEQ ID NO:37).

NO:1); H1077 (SEQ ID NO:21) y L151 (SEQ ID NO:2); H1077 (SEQ ID NO:21) y L158 (SEQ ID NO:3); H1077 (SEQ ID NO:21) y L159 (SEQ ID NO:4); H1077 (SEQ ID NO:21) y L164 (SEQ ID NO:5); H1077 (SEQ ID NO:21) y L165 (SEQ ID NO:6); H1077 (SEQ ID NO:21) y L166 (SEQ ID NO:7); H1077 (SEQ ID NO:21) y L167 (SEQ ID NO:8); H1077 (SEQ ID NO:21) y L168 (SEQ ID NO:9); H1077 (SEQ ID NO:21) y L169 (SEQ ID NO:10); H1077 (SEQ ID NO:21) y L170 (SEQ ID NO:11); H1077 (SEQ ID NO:21) y L171 (SEQ ID NO:12); H1077 (SEQ ID NO:21) y L172 (SEQ ID NO:13); H1077 (SEQ ID NO:21) y L173 (SEQ ID NO:14); H1077 (SEQ ID NO:21) y L174 (SEQ ID NO:15); H1077 (SEQ ID NO:21) y L175 (SEQ ID NO:16); H1077 (SEQ ID NO:21) y L189 (SEQ ID NO:17); H1077 (SEQ ID NO:21) y L198 (SEQ ID NO:18); H1077 (SEQ ID NO:21) y L314 (SEQ ID NO:33); H1077 (SEQ ID NO:21) y L305 (SEQ ID NO:34); H1077 (SEQ ID NO:21) y L303 (SEQ ID NO:35); H1077 (SEQ ID NO:21) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H1077 (SEQ ID NO:21) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00115] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1078 (SEQ ID NO:22) y L112 (SEQ ID NO:1); H1078 (SEQ ID NO:22) y L151 (SEQ ID NO:2); H1078 (SEQ ID NO:22) y L158 (SEQ ID NO:3); H1078 (SEQ ID NO:22) y L159 (SEQ ID NO:4); H1078 (SEQ ID NO:22) y L164 (SEQ ID NO:5); H1078 (SEQ ID NO:22) y L165 (SEQ ID NO:6); H1078 (SEQ ID NO:22) y L166 (SEQ ID NO:7); H1078 (SEQ ID NO:22) y L167 (SEQ

ID NO:8); H1078 (SEQ ID NO:22) y L168 (SEQ ID NO:9); H1078 (SEQ ID NO:22) y L169 (SEQ ID NO:10); H1078 (SEQ ID NO:22) y L170 (SEQ ID NO:11); H1078 (SEQ ID NO:22) y L171 (SEQ ID NO:12); H1078 (SEQ ID NO:22) y L172 (SEQ ID NO:13); H1078 (SEQ ID NO:22) y L173 (SEQ ID NO:14); H1078 (SEQ ID NO:22) y L174 (SEQ ID NO:15); H1078 (SEQ ID NO:22) y L175 (SEQ ID NO:16); H1078 (SEQ ID NO:22) y L189 (SEQ ID NO:17); H1078 (SEQ ID NO:22) y L198 (SEQ ID NO:18); H1078 (SEQ ID NO:22) y L314 (SEQ ID NO:33); H1078 (SEQ ID NO:22) y L305 (SEQ ID NO:34); H1078 (SEQ ID NO:22) y L303 (SEQ ID NO:35); H1078 (SEQ ID NO:22) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H1078 (SEQ ID NO:22) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00116] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1079 (SEQ ID NO:23) y L112 (SEQ ID NO:1); H1079 (SEQ ID NO:23) y L151 (SEQ ID NO:2); H1079 (SEQ ID NO:23) y L158 (SEQ ID NO:3); H1079 (SEQ ID NO:23) y L159 (SEQ ID NO:4); H1079 (SEQ ID NO:23) y L164 (SEQ ID NO:5); H1079 (SEQ ID NO:23) y L165 (SEQ ID NO:6); H1079 (SEQ ID NO:23) y L166 (SEQ ID NO:7); H1079 (SEQ ID NO:23) y L167 (SEQ ID NO:8); H1079 (SEQ ID NO:23) y L168 (SEQ ID NO:9); H1079 (SEQ ID NO:23) y L169 (SEQ ID NO:10); H1079 (SEQ ID NO:23) y L170 (SEQ ID NO:11); H1079 (SEQ ID NO:23) y L171 (SEQ ID NO:12); H1079 (SEQ ID NO:23) y L172 (SEQ ID NO:13); H1079 (SEQ ID NO:23) y L173 (SEQ ID NO:14); H1079 (SEQ ID NO:23) y L174

(SEQ ID NO:15); H1079 (SEQ ID NO:23) y L175 (SEQ ID NO:16);
 H1079 (SEQ ID NO:23) y L189 (SEQ ID NO:17); H1079 (SEQ ID
 NO:23) y L198 (SEQ ID NO:18); H1079 (SEQ ID NO:23) y L314 (SEQ
 ID NO:33); H1079 (SEQ ID NO:23) y L305 (SEQ ID NO:34); H1079
 5 (SEQ ID NO:23) y L303 (SEQ ID NO:35); H1079 (SEQ ID NO:23) y
 L298 (SEQ ID NO:36); ó H1079 (SEQ ID NO:23) y L321 (SEQ ID
 NO:37).

[00117] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6
 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de
 10 regiones VH y regiones VL: H1081 (SEQ ID NO:24) y L112 (SEQ ID
 NO:1); H1081 (SEQ ID NO:24) y L151 (SEQ ID NO:2); H1081 (SEQ
 ID NO:24) y L158 (SEQ ID NO:3); H1081 (SEQ ID NO:24) y L159
 (SEQ ID NO:4); H1081 (SEQ ID NO:24) y L164 (SEQ ID NO:5);
 H1081 (SEQ ID NO:24) y L165 (SEQ ID NO:6); H1081 (SEQ ID
 15 NO:24) y L166 (SEQ ID NO:7); H1081 (SEQ ID NO:24) y L167 (SEQ
 ID NO:8); H1081 (SEQ ID NO:24) y L168 (SEQ ID NO:9); H1081
 (SEQ ID NO:24) y L169 (SEQ ID NO:10); H1081 (SEQ ID NO:24) y
 L170 (SEQ ID NO:11); H1081 (SEQ ID NO:24) y L171 (SEQ ID
 NO:12); H1081 (SEQ ID NO:24) y L172 (SEQ ID NO:13); H1081 (SEQ
 20 ID NO:24) y L173 (SEQ ID NO:14); H1081 (SEQ ID NO:24) y L174
 (SEQ ID NO:15); H1081 (SEQ ID NO:24) y L175 (SEQ ID NO:16);
 H1081 (SEQ ID NO:24) y L189 (SEQ ID NO:17); H1081 (SEQ ID
 NO:24) y L198 (SEQ ID NO:18); H1081 (SEQ ID NO:24) y L314 (SEQ
 ID NO:33); H1081 (SEQ ID NO:24) y L305 (SEQ ID NO:34); H1081
 25 (SEQ ID NO:24) y L303 (SEQ ID NO:35); H1081 (SEQ ID NO:24) y

L298 (SEQ ID NO:36); ó H1081 (SEQ ID NO:24) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00118] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1089 (SEQ ID NO:25) y L112 (SEQ ID NO:1); H1089 (SEQ ID NO:25) y L151 (SEQ ID NO:2); H1089 (SEQ ID NO:25) y L158 (SEQ ID NO:3); H1089 (SEQ ID NO:25) y L159 (SEQ ID NO:4); H1089 (SEQ ID NO:25) y L164 (SEQ ID NO:5); H1089 (SEQ ID NO:25) y L165 (SEQ ID NO:6); H1089 (SEQ ID NO:25) y L166 (SEQ ID NO:7); H1089 (SEQ ID NO:25) y L167 (SEQ ID NO:8); H1089 (SEQ ID NO:25) y L168 (SEQ ID NO:9); H1089 (SEQ ID NO:25) y L169 (SEQ ID NO:10); H1089 (SEQ ID NO:25) y L170 (SEQ ID NO:11); H1089 (SEQ ID NO:25) y L171 (SEQ ID NO:12); H1089 (SEQ ID NO:25) y L172 (SEQ ID NO:13); H1089 (SEQ ID NO:25) y L173 (SEQ ID NO:14); H1089 (SEQ ID NO:25) y L174 (SEQ ID NO:15); H1089 (SEQ ID NO:25) y L175 (SEQ ID NO:16); H1089 (SEQ ID NO:25) y L189 (SEQ ID NO:17); H1089 (SEQ ID NO:25) y L198 (SEQ ID NO:18); H1089 (SEQ ID NO:25) y L314 (SEQ ID NO:33); H1089 (SEQ ID NO:25) y L305 (SEQ ID NO:34); H1089 (SEQ ID NO:25) y L303 (SEQ ID NO:35); H1089 (SEQ ID NO:25) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H1089 (SEQ ID NO:25) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00119] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1511 (SEQ ID NO:26) y L112 (SEQ ID

NO:1); H1511 (SEQ ID NO:26) y L151 (SEQ ID NO:2); H1511 (SEQ ID NO:26) y L158 (SEQ ID NO:3); H1511 (SEQ ID NO:26) y L159 (SEQ ID NO:4); H1511 (SEQ ID NO:26) y L164 (SEQ ID NO:5); H1511 (SEQ ID NO:26) y L165 (SEQ ID NO:6); H1511 (SEQ ID NO:26) y L166 (SEQ ID NO:7); H1511 (SEQ ID NO:26) y L167 (SEQ ID NO:8); H1511 (SEQ ID NO:26) y L168 (SEQ ID NO:9); H1511 (SEQ ID NO:26) y L169 (SEQ ID NO:10); H1511 (SEQ ID NO:26) y L170 (SEQ ID NO:11); H1511 (SEQ ID NO:26) y L171 (SEQ ID NO:12); H1511 (SEQ ID NO:26) y L172 (SEQ ID NO:13); H1511 (SEQ ID NO:26) y L173 (SEQ ID NO:14); H1511 (SEQ ID NO:26) y L174 (SEQ ID NO:15); H1511 (SEQ ID NO:26) y L175 (SEQ ID NO:16); H1511 (SEQ ID NO:26) y L189 (SEQ ID NO:17); H1511 (SEQ ID NO:26) y L198 (SEQ ID NO:18); H1511 (SEQ ID NO:26) y L314 (SEQ ID NO:33); H1511 (SEQ ID NO:26) y L305 (SEQ ID NO:34); H1511 (SEQ ID NO:26) y L303 (SEQ ID NO:35); H1511 (SEQ ID NO:26) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H1511 (SEQ ID NO:26) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00120] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1420 (SEQ ID NO:27) y L112 (SEQ ID NO:1); H1420 (SEQ ID NO:27) y L151 (SEQ ID NO:2); H1420 (SEQ ID NO:27) y L158 (SEQ ID NO:3); H1420 (SEQ ID NO:27) y L159 (SEQ ID NO:4); H1420 (SEQ ID NO:27) y L164 (SEQ ID NO:5); H1420 (SEQ ID NO:27) y L165 (SEQ ID NO:6); H1420 (SEQ ID NO:27) y L166 (SEQ ID NO:7); H1420 (SEQ ID NO:27) y L167 (SEQ

ID NO:8); H1420 (SEQ ID NO:27) y L168 (SEQ ID NO:9); H1420 (SEQ ID NO:27) y L169 (SEQ ID NO:10); H1420 (SEQ ID NO:27) y L170 (SEQ ID NO:11); H1420 (SEQ ID NO:27) y L171 (SEQ ID NO:12); H1420 (SEQ ID NO:27) y L172 (SEQ ID NO:13); H1420 (SEQ ID NO:27) y L173 (SEQ ID NO:14); H1420 (SEQ ID NO:27) y L174 (SEQ ID NO:15); H1420 (SEQ ID NO:27) y L175 (SEQ ID NO:16); H1420 (SEQ ID NO:27) y L189 (SEQ ID NO:17); H1420 (SEQ ID NO:27) y L198 (SEQ ID NO:18); H1420 (SEQ ID NO:27) y L314 (SEQ ID NO:33); H1420 (SEQ ID NO:27) y L305 (SEQ ID NO:34); H1420 (SEQ ID NO:27) y L303 (SEQ ID NO:35); H1420 (SEQ ID NO:27) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H1420 (SEQ ID NO:27) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00121] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1432 (SEQ ID NO:28) y L112 (SEQ ID NO:1); H1432 (SEQ ID NO:28) y L151 (SEQ ID NO:2); H1432 (SEQ ID NO:28) y L158 (SEQ ID NO:3); H1432 (SEQ ID NO:28) y L159 (SEQ ID NO:4); H1432 (SEQ ID NO:28) y L164 (SEQ ID NO:5); H1432 (SEQ ID NO:28) y L165 (SEQ ID NO:6); H1432 (SEQ ID NO:28) y L166 (SEQ ID NO:7); H1432 (SEQ ID NO:28) y L167 (SEQ ID NO:8); H1432 (SEQ ID NO:28) y L168 (SEQ ID NO:9); H1432 (SEQ ID NO:28) y L169 (SEQ ID NO:10); H1432 (SEQ ID NO:28) y L170 (SEQ ID NO:11); H1432 (SEQ ID NO:28) y L171 (SEQ ID NO:12); H1432 (SEQ ID NO:28) y L172 (SEQ ID NO:13); H1432 (SEQ ID NO:28) y L173 (SEQ ID NO:14); H1432 (SEQ ID NO:28) y L174

(SEQ ID NO:15); H1432 (SEQ ID NO:28) y L175 (SEQ ID NO:16);
 H1432 (SEQ ID NO:28) y L189 (SEQ ID NO:17); H1432 (SEQ ID
 NO:28) y L198 (SEQ ID NO:18); H1432 (SEQ ID NO:28) y L314 (SEQ
 ID NO:33); H1432 (SEQ ID NO:28) y L305 (SEQ ID NO:34); H1432
 5 (SEQ ID NO:28) y L303 (SEQ ID NO:35); H1432 (SEQ ID NO:28) y
 L298 (SEQ ID NO:36); ó H1432 (SEQ ID NO:28) y L321 (SEQ ID
 NO:37).

[00122] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6
 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de
 10 regiones VH y regiones VL: H1515 (SEQ ID NO:29) y L112 (SEQ ID
 NO:1); H1515 (SEQ ID NO:29) y L151 (SEQ ID NO:2); H1515 (SEQ
 ID NO:29) y L158 (SEQ ID NO:3); H1515 (SEQ ID NO:29) y L159
 (SEQ ID NO:4); H1515 (SEQ ID NO:29) y L164 (SEQ ID NO:5);
 H1515 (SEQ ID NO:29) y L165 (SEQ ID NO:6); H1515 (SEQ ID
 15 NO:29) y L166 (SEQ ID NO:7); H1515 (SEQ ID NO:29) y L167 (SEQ
 ID NO:8); H1515 (SEQ ID NO:29) y L168 (SEQ ID NO:9); H1515
 (SEQ ID NO:29) y L169 (SEQ ID NO:10); H1515 (SEQ ID NO:29) y
 L170 (SEQ ID NO:11); H1515 (SEQ ID NO:29) y L171 (SEQ ID
 NO:12); H1515 (SEQ ID NO:29) y L172 (SEQ ID NO:13); H1515 (SEQ
 20 ID NO:29) y L173 (SEQ ID NO:14); H1515 (SEQ ID NO:29) y L174
 (SEQ ID NO:15); H1515 (SEQ ID NO:29) y L175 (SEQ ID NO:16);
 H1515 (SEQ ID NO:29) y L189 (SEQ ID NO:17); H1515 (SEQ ID
 NO:29) y L198 (SEQ ID NO:18); H1515 (SEQ ID NO:29) y L314 (SEQ
 ID NO:33); H1515 (SEQ ID NO:29) y L305 (SEQ ID NO:34); H1515
 25 (SEQ ID NO:29) y L303 (SEQ ID NO:35); H1515 (SEQ ID NO:29) y

L298 (SEQ ID NO:36); ó H1515 (SEQ ID NO:29) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00123] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1362 (SEQ ID NO:30) y L112 (SEQ ID NO:1); H1362 (SEQ ID NO:30) y L151 (SEQ ID NO:2); H1362 (SEQ ID NO:30) y L158 (SEQ ID NO:3); H1362 (SEQ ID NO:30) y L159 (SEQ ID NO:4); H1362 (SEQ ID NO:30) y L164 (SEQ ID NO:5); H1362 (SEQ ID NO:30) y L165 (SEQ ID NO:6); H1362 (SEQ ID NO:30) y L166 (SEQ ID NO:7); H1362 (SEQ ID NO:30) y L167 (SEQ ID NO:8); H1362 (SEQ ID NO:30) y L168 (SEQ ID NO:9); H1362 (SEQ ID NO:30) y L169 (SEQ ID NO:10); H1362 (SEQ ID NO:30) y L170 (SEQ ID NO:11); H1362 (SEQ ID NO:30) y L171 (SEQ ID NO:12); H1362 (SEQ ID NO:30) y L172 (SEQ ID NO:13); H1362 (SEQ ID NO:30) y L173 (SEQ ID NO:14); H1362 (SEQ ID NO:30) y L174 (SEQ ID NO:15); H1362 (SEQ ID NO:30) y L175 (SEQ ID NO:16); H1362 (SEQ ID NO:30) y L189 (SEQ ID NO:17); H1362 (SEQ ID NO:30) y L198 (SEQ ID NO:18); H1362 (SEQ ID NO:30) y L314 (SEQ ID NO:33); H1362 (SEQ ID NO:30) y L305 (SEQ ID NO:34); H1362 (SEQ ID NO:30) y L303 (SEQ ID NO:35); H1362 (SEQ ID NO:30) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H1362 (SEQ ID NO:30) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00124] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1437 (SEQ ID NO:31) y L112 (SEQ ID NO:1); H1437 (SEQ ID NO:31) y L151 (SEQ ID NO:2); H1437 (SEQ ID NO:31) y L158 (SEQ ID NO:3); H1437 (SEQ ID NO:31) y L159 (SEQ ID NO:4); H1437 (SEQ ID NO:31) y L164 (SEQ ID NO:5); H1437 (SEQ ID NO:31) y L165 (SEQ ID NO:6); H1437 (SEQ ID NO:31) y L166 (SEQ ID NO:7); H1437 (SEQ ID NO:31) y L167 (SEQ ID NO:8); H1437 (SEQ ID NO:31) y L168 (SEQ ID NO:9); H1437 (SEQ ID NO:31) y L169 (SEQ ID NO:10); H1437 (SEQ ID NO:31) y L170 (SEQ ID NO:11); H1437 (SEQ ID NO:31) y L171 (SEQ ID NO:12); H1437 (SEQ ID NO:31) y L172 (SEQ ID NO:13); H1437 (SEQ ID NO:31) y L173 (SEQ ID NO:14); H1437 (SEQ ID NO:31) y L174 (SEQ ID NO:15); H1437 (SEQ ID NO:31) y L175 (SEQ ID NO:16); H1437 (SEQ ID NO:31) y L189 (SEQ ID NO:17); H1437 (SEQ ID NO:31) y L198 (SEQ ID NO:18); H1437 (SEQ ID NO:31) y L314 (SEQ ID NO:33); H1437 (SEQ ID NO:31) y L305 (SEQ ID NO:34); H1437 (SEQ ID NO:31) y L303 (SEQ ID NO:35); H1437 (SEQ ID NO:31) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H1437 (SEQ ID NO:31) y L321 (SEQ ID NO:37).

NO:1); H1437 (SEQ ID NO:31) y L151 (SEQ ID NO:2); H1437 (SEQ ID NO:31) y L158 (SEQ ID NO:3); H1437 (SEQ ID NO:31) y L159 (SEQ ID NO:4); H1437 (SEQ ID NO:31) y L164 (SEQ ID NO:5); H1437 (SEQ ID NO:31) y L165 (SEQ ID NO:6); H1437 (SEQ ID NO:31) y L166 (SEQ ID NO:7); H1437 (SEQ ID NO:31) y L167 (SEQ ID NO:8); H1437 (SEQ ID NO:31) y L168 (SEQ ID NO:9); H1437 (SEQ ID NO:31) y L169 (SEQ ID NO:10); H1437 (SEQ ID NO:31) y L170 (SEQ ID NO:11); H1437 (SEQ ID NO:31) y L171 (SEQ ID NO:12); H1437 (SEQ ID NO:31) y L172 (SEQ ID NO:13); H1437 (SEQ ID NO:31) y L173 (SEQ ID NO:14); H1437 (SEQ ID NO:31) y L174 (SEQ ID NO:15); H1437 (SEQ ID NO:31) y L175 (SEQ ID NO:16); H1437 (SEQ ID NO:31) y L189 (SEQ ID NO:17); H1437 (SEQ ID NO:31) y L198 (SEQ ID NO:18); H1437 (SEQ ID NO:31) y L314 (SEQ ID NO:33); H1437 (SEQ ID NO:31) y L305 (SEQ ID NO:34); H1437 (SEQ ID NO:31) y L303 (SEQ ID NO:35); H1437 (SEQ ID NO:31) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H1437 (SEQ ID NO:31) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00125] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1461 (SEQ ID NO:32) y L112 (SEQ ID NO:1); H1461 (SEQ ID NO:32) y L151 (SEQ ID NO:2); H1461 (SEQ ID NO:32) y L158 (SEQ ID NO:3); H1461 (SEQ ID NO:32) y L159 (SEQ ID NO:4); H1461 (SEQ ID NO:32) y L164 (SEQ ID NO:5); H1461 (SEQ ID NO:32) y L165 (SEQ ID NO:6); H1461 (SEQ ID NO:32) y L166 (SEQ ID NO:7); H1461 (SEQ ID NO:32) y L167 (SEQ

ID NO:8); H1461 (SEQ ID NO:32) y L168 (SEQ ID NO:9); H1461 (SEQ ID NO:32) y L169 (SEQ ID NO:10); H1461 (SEQ ID NO:32) y L170 (SEQ ID NO:11); H1461 (SEQ ID NO:32) y L171 (SEQ ID NO:12); H1461 (SEQ ID NO:32) y L172 (SEQ ID NO:13); H1461 (SEQ ID NO:32) y L173 (SEQ ID NO:14); H1461 (SEQ ID NO:32) y L174 (SEQ ID NO:15); H1461 (SEQ ID NO:32) y L175 (SEQ ID NO:16); H1461 (SEQ ID NO:32) y L189 (SEQ ID NO:17); H1461 (SEQ ID NO:32) y L198 (SEQ ID NO:18); H1461 (SEQ ID NO:32) y L314 (SEQ ID NO:33); H1461 (SEQ ID NO:32) y L305 (SEQ ID NO:34); H1461 (SEQ ID NO:32) y L303 (SEQ ID NO:35); H1461 (SEQ ID NO:32) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H1461 (SEQ ID NO:32) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00126] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1519 (SEQ ID NO:38) y L112 (SEQ ID NO:1); H1519 (SEQ ID NO:38) y L151 (SEQ ID NO:2); H1519 (SEQ ID NO:38) y L158 (SEQ ID NO:3); H1519 (SEQ ID NO:38) y L159 (SEQ ID NO:4); H1519 (SEQ ID NO:38) y L164 (SEQ ID NO:5); H1519 (SEQ ID NO:38) y L165 (SEQ ID NO:6); H1519 (SEQ ID NO:38) y L166 (SEQ ID NO:7); H1519 (SEQ ID NO:38) y L167 (SEQ ID NO:8); H1519 (SEQ ID NO:38) y L168 (SEQ ID NO:9); H1519 (SEQ ID NO:38) y L169 (SEQ ID NO:10); H1519 (SEQ ID NO:38) y L170 (SEQ ID NO:11); H1519 (SEQ ID NO:38) y L171 (SEQ ID NO:12); H1519 (SEQ ID NO:38) y L172 (SEQ ID NO:13); H1519 (SEQ ID NO:38) y L173 (SEQ ID NO:14); H1519 (SEQ ID NO:38) y L174

(SEQ ID NO:15); H1519 (SEQ ID NO:38) y L175 (SEQ ID NO:16);
 H1519 (SEQ ID NO:38) y L189 (SEQ ID NO:17); H1519 (SEQ ID
 NO:38) y L198 (SEQ ID NO:18); H1519 (SEQ ID NO:38) y L314 (SEQ
 ID NO:33); H1519 (SEQ ID NO:38) y L305 (SEQ ID NO:34); H1519
 5 (SEQ ID NO:38) y L303 (SEQ ID NO:35); H1519 (SEQ ID NO:38) y
 L298 (SEQ ID NO:36); ó H1519 (SEQ ID NO:38) y L321 (SEQ ID
 NO:37).

[00127] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6
 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de
 10 regiones VH y regiones VL: H1520 (SEQ ID NO:39) y L112 (SEQ ID
 NO:1); H1520 (SEQ ID NO:39) y L151 (SEQ ID NO:2); H1520 (SEQ
 ID NO:39) y L158 (SEQ ID NO:3); H1520 (SEQ ID NO:39) y L159
 (SEQ ID NO:4); H1520 (SEQ ID NO:39) y L164 (SEQ ID NO:5);
 H1520 (SEQ ID NO:39) y L165 (SEQ ID NO:6); H1520 (SEQ ID
 15 NO:39) y L166 (SEQ ID NO:7); H1520 (SEQ ID NO:39) y L167 (SEQ
 ID NO:8); H1520 (SEQ ID NO:39) y L168 (SEQ ID NO:9); H1520
 (SEQ ID NO:39) y L169 (SEQ ID NO:10); H1520 (SEQ ID NO:39) y
 L170 (SEQ ID NO:11); H1520 (SEQ ID NO:39) y L171 (SEQ ID
 NO:12); H1520 (SEQ ID NO:39) y L172 (SEQ ID NO:13); H1520 (SEQ
 20 ID NO:39) y L173 (SEQ ID NO:14); H1520 (SEQ ID NO:39) y L174
 (SEQ ID NO:15); H1520 (SEQ ID NO:39) y L175 (SEQ ID NO:16);
 H1520 (SEQ ID NO:39) y L189 (SEQ ID NO:17); H1520 (SEQ ID
 NO:39) y L198 (SEQ ID NO:18); H1520 (SEQ ID NO:39) y L314 (SEQ
 ID NO:33); H1520 (SEQ ID NO:39) y L305 (SEQ ID NO:34); H1520
 25 (SEQ ID NO:39) y L303 (SEQ ID NO:35); H1520 (SEQ ID NO:39) y

L298 (SEQ ID NO:36); ó H1520 (SEQ ID NO:39) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00128] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1521 (SEQ ID NO:40) y L112 (SEQ ID NO:1); H1521 (SEQ ID NO:40) y L151 (SEQ ID NO:2); H1521 (SEQ ID NO:40) y L158 (SEQ ID NO:3); H1521 (SEQ ID NO:40) y L159 (SEQ ID NO:4); H1521 (SEQ ID NO:40) y L164 (SEQ ID NO:5); H1521 (SEQ ID NO:40) y L165 (SEQ ID NO:6); H1521 (SEQ ID NO:40) y L166 (SEQ ID NO:7); H1521 (SEQ ID NO:40) y L167 (SEQ ID NO:8); H1521 (SEQ ID NO:40) y L168 (SEQ ID NO:9); H1521 (SEQ ID NO:40) y L169 (SEQ ID NO:10); H1521 (SEQ ID NO:40) y L170 (SEQ ID NO:11); H1521 (SEQ ID NO:40) y L171 (SEQ ID NO:12); H1521 (SEQ ID NO:40) y L172 (SEQ ID NO:13); H1521 (SEQ ID NO:40) y L173 (SEQ ID NO:14); H1521 (SEQ ID NO:40) y L174 (SEQ ID NO:15); H1521 (SEQ ID NO:40) y L175 (SEQ ID NO:16); H1521 (SEQ ID NO:40) y L189 (SEQ ID NO:17); H1521 (SEQ ID NO:40) y L198 (SEQ ID NO:18); H1521 (SEQ ID NO:40) y L314 (SEQ ID NO:33); H1521 (SEQ ID NO:40) y L305 (SEQ ID NO:34); H1521 (SEQ ID NO:40) y L303 (SEQ ID NO:35); H1521 (SEQ ID NO:40) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H1521 (SEQ ID NO:40) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00129] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1522 (SEQ ID NO:41) y L112 (SEQ ID

NO:1); H1522 (SEQ ID NO:41) y L151 (SEQ ID NO:2); H1522 (SEQ ID NO:41) y L158 (SEQ ID NO:3); H1522 (SEQ ID NO:41) y L159 (SEQ ID NO:4); H1522 (SEQ ID NO:41) y L164 (SEQ ID NO:5); H1522 (SEQ ID NO:41) y L165 (SEQ ID NO:6); H1522 (SEQ ID NO:41) y L166 (SEQ ID NO:7); H1522 (SEQ ID NO:41) y L167 (SEQ ID NO:8); H1522 (SEQ ID NO:41) y L168 (SEQ ID NO:9); H1522 (SEQ ID NO:41) y L169 (SEQ ID NO:10); H1522 (SEQ ID NO:41) y L170 (SEQ ID NO:11); H1522 (SEQ ID NO:41) y L171 (SEQ ID NO:12); H1522 (SEQ ID NO:41) y L172 (SEQ ID NO:13); H1522 (SEQ ID NO:41) y L173 (SEQ ID NO:14); H1522 (SEQ ID NO:41) y L174 (SEQ ID NO:15); H1522 (SEQ ID NO:41) y L175 (SEQ ID NO:16); H1522 (SEQ ID NO:41) y L189 (SEQ ID NO:17); H1522 (SEQ ID NO:41) y L198 (SEQ ID NO:18); H1522 (SEQ ID NO:41) y L314 (SEQ ID NO:33); H1522 (SEQ ID NO:41) y L305 (SEQ ID NO:34); H1522 (SEQ ID NO:41) y L303 (SEQ ID NO:35); H1522 (SEQ ID NO:41) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H1522 (SEQ ID NO:41) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00130] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1553 (SEQ ID NO:42) y L112 (SEQ ID NO:1); H1553 (SEQ ID NO:42) y L151 (SEQ ID NO:2); H1553 (SEQ ID NO:42) y L158 (SEQ ID NO:3); H1553 (SEQ ID NO:42) y L159 (SEQ ID NO:4); H1553 (SEQ ID NO:42) y L164 (SEQ ID NO:5); H1553 (SEQ ID NO:42) y L165 (SEQ ID NO:6); H1553 (SEQ ID NO:42) y L166 (SEQ ID NO:7); H1553 (SEQ ID NO:42) y L167 (SEQ

ID NO:8); H1553 (SEQ ID NO:42) y L168 (SEQ ID NO:9); H1553 (SEQ ID NO:42) y L169 (SEQ ID NO:10); H1553 (SEQ ID NO:42) y L170 (SEQ ID NO:11); H1553 (SEQ ID NO:42) y L171 (SEQ ID NO:12); H1553 (SEQ ID NO:42) y L172 (SEQ ID NO:13); H1553 (SEQ ID NO:42) y L173 (SEQ ID NO:14); H1553 (SEQ ID NO:42) y L174 (SEQ ID NO:15); H1553 (SEQ ID NO:42) y L175 (SEQ ID NO:16); H1553 (SEQ ID NO:42) y L189 (SEQ ID NO:17); H1553 (SEQ ID NO:42) y L198 (SEQ ID NO:18); H1553 (SEQ ID NO:42) y L314 (SEQ ID NO:33); H1553 (SEQ ID NO:42) y L305 (SEQ ID NO:34); H1553 (SEQ ID NO:42) y L303 (SEQ ID NO:35); H1553 (SEQ ID NO:42) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H1553 (SEQ ID NO:42) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00131] La invención también incluye anticuerpos anti-IL-6 que comprenden cualquiera de las siguientes combinaciones de regiones VH y regiones VL: H1579 (SEQ ID NO:43) y L112 (SEQ ID NO:1); H1579 (SEQ ID NO:43) y L151 (SEQ ID NO:2); H1579 (SEQ ID NO:43) y L158 (SEQ ID NO:3); H1579 (SEQ ID NO:43) y L159 (SEQ ID NO:4); H1579 (SEQ ID NO:43) y L164 (SEQ ID NO:5); H1579 (SEQ ID NO:43) y L165 (SEQ ID NO:6); H1579 (SEQ ID NO:43) y L166 (SEQ ID NO:7); H1579 (SEQ ID NO:43) y L167 (SEQ ID NO:8); H1579 (SEQ ID NO:43) y L168 (SEQ ID NO:9); H1579 (SEQ ID NO:43) y L169 (SEQ ID NO:10); H1579 (SEQ ID NO:43) y L170 (SEQ ID NO:11); H1579 (SEQ ID NO:43) y L171 (SEQ ID NO:12); H1579 (SEQ ID NO:43) y L172 (SEQ ID NO:13); H1579 (SEQ ID NO:43) y L173 (SEQ ID NO:14); H1579 (SEQ ID NO:43) y L174

(SEQ ID NO:15); H1579 (SEQ ID NO:43) y L175 (SEQ ID NO:16); H1579 (SEQ ID NO:43) y L189 (SEQ ID NO:17); H1579 (SEQ ID NO:43) y L198 (SEQ ID NO:18); H1579 (SEQ ID NO:43) y L314 (SEQ ID NO:33); H1579 (SEQ ID NO:43) y L305 (SEQ ID NO:34); H1579 (SEQ ID NO:43) y L303 (SEQ ID NO:35); H1579 (SEQ ID NO:43) y L298 (SEQ ID NO:36); ó H1579 (SEQ ID NO:43) y L321 (SEQ ID NO:37).

[00132] Como será entendido por la persona de una experiencia ordinaria en este campo, cualquiera de los anticuerpos anteriormente mencionados que comprendan una combinación de una región VH y una región VL, pueden incluir una o más regiones (o "dominios") adicionales que se encuentren normalmente en las moléculas de anticuerpo, tales como, por ejemplo, una o más regiones constantes de cadena pesada (por ejemplo, CH1, CH2, y/o CH3), y/o una región constante de cadena ligera (CL). De una manera preferible, un anticuerpo que comprenda una combinación de una región VH y una región VL, como se estipula en la presente, se enlazará específicamente con un antígeno de IL-6.

MOLÉCULAS DE ÁCIDOS NUCLEICOS, VECTORES, Y CÉLULAS

[00133] La presente invención incluye moléculas de ácidos nucleicos que codifican una cadena pesada de anticuerpo anti-IL-6 que comprende cualquiera de las regiones VH estipuladas en la presente, incluyendo cualesquiera variantes de aminoácidos de las regiones VH. La invención también incluye moléculas de ácidos nucleicos que codifican una cadena ligera de anticuerpo anti-IL-6

que comprende cualquiera de las regiones VL estipuladas en la presente, incluyendo cualesquiera variantes de aminoácidos de las regiones VL. En ciertas realizaciones, las moléculas de ácidos nucleicos codifican una porción de una cadena pesada de anticuerpo anti-IL-6 o una porción de una cadena ligera de anticuerpo anti-IL-6. Por ejemplo, la invención incluye moléculas de ácidos nucleicos que codifican un polipéptido que comprende una o más regiones determinantes de complementariedad de una VH anti-IL-6 estipulada en la presente, incluyendo cualquiera de las regiones determinantes de complementariedad representadas por las SEQ ID NOs:51 a 73. La invención también incluye moléculas de ácidos nucleicos que codifican un polipéptido que comprende una o más regiones determinantes de complementariedad de una VL anti-IL-6 estipulada en la presente, incluyendo cualquiera de las regiones determinantes de complementariedad representadas por las SEQ ID NOs:74 a 96.

[00134] La presente invención también incluye moléculas de ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las regiones VH estipuladas en la presente, incluyendo cualquiera de las regiones VH representadas por las SEQ ID NOs:19 a 32 y 38 a 43. La invención incluye moléculas de ácidos nucleicos que codifican una región VH que tiene una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 40 por ciento, cuando menos el 45 por ciento, cuando menos el 50 por ciento, cuando menos el 55 por ciento, cuando menos el 60 por ciento, cuando menos el 65 por ciento, cuando menos el 70 por ciento, cuando menos el 75 por ciento, cuando menos el 80 por

ciento, cuando menos el 81 por ciento, cuando menos el 82 por
 ciento, cuando menos el 83 por ciento, cuando menos el 84 por
 ciento, cuando menos el 85 por ciento, cuando menos el 86 por
 ciento, cuando menos el 87 por ciento, cuando menos el 88 por
 5 ciento, cuando menos el 89 por ciento, cuando menos el 90 por
 ciento, cuando menos el 91 por ciento, cuando menos el 92 por
 ciento, cuando menos el 93 por ciento, cuando menos el 94 por
 ciento, cuando menos el 95 por ciento, cuando menos el 96 por
 ciento, cuando menos el 97 por ciento, cuando menos el 98 por
 10 ciento, o cuando menos el 99 por ciento idéntica a cualquiera de las
 SEQ ID NOs:19 a 32 y 38 a 43, en donde un anticuerpo que
 comprenda la región VH se enlaza específicamente con IL-6.

[00135] La presente invención también incluye moléculas de
 ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las regiones VL
 15 estipuladas en la presente, incluyendo cualquiera de las regiones VL
 representadas por las SEQ ID NOs:1 a 18 y 33 a 37. La invención
 incluye moléculas de ácidos nucleicos que codifican una región VL
 que tiene una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 40
 por ciento, cuando menos el 45 por ciento, cuando menos el 50 por
 20 ciento, cuando menos el 55 por ciento, cuando menos el 60 por
 ciento, cuando menos el 65 por ciento, cuando menos el 70 por
 ciento, cuando menos el 75 por ciento, cuando menos el 80 por
 ciento, cuando menos el 81 por ciento, cuando menos el 82 por
 ciento, cuando menos el 83 por ciento, cuando menos el 84 por
 25 ciento, cuando menos el 85 por ciento, cuando menos el 86 por

ciento, cuando menos el 87 por ciento, cuando menos el 88 por ciento, cuando menos el 89 por ciento, cuando menos el 90 por ciento, cuando menos el 91 por ciento, cuando menos el 92 por ciento, cuando menos el 93 por ciento, cuando menos el 94 por ciento, cuando menos el 95 por ciento, cuando menos el 96 por ciento, cuando menos el 97 por ciento, cuando menos el 98 por ciento, o cuando menos el 99 por ciento idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs:1 a 18 y 33 a 37, en donde un anticuerpo que comprende la región VL se enlaza específicamente con IL-6.

10 [00136] La invención también incluye vectores de expresión que comprenden cualquiera de las moléculas de ácidos nucleicos descritas en la presente. Los vectores de ejemplo incluyen plásmidos, fagémidos, cósmidos, virus, y ácidos nucleicos de fagos, u otras moléculas de ácidos nucleicos que sean capaces de
15 replicarse de una manera autónoma, o de replicarse en una célula procariótica o eucariótica. En ciertas realizaciones, los vectores son capaces de replicarse en una célula de mamífero. Los vectores de expresión típicos contienen terminadores de transcripción y de traducción, secuencias de inicio, y promotores útiles para la
20 regulación de la expresión de las moléculas de ácidos nucleicos de la invención. Los vectores también pueden comprender casetes de expresión genética que contengan cuando menos una secuencia terminadora independiente, secuencias que permitan la réplica del vector tanto en eucariotes como en procariotes, es decir, vectores de
25 lanzamiento, y marcadores de selección para sistemas tanto

procarióticos como eucarióticos. Los vectores de preferencia contienen un marcador para proporcionar un rasgo fenotípico para la selección de las células hospederas transformadas, tal como conferir resistencia a antibióticos, tales como a ampicilina o neomicina.

5 **[00137]** Las moléculas de ácidos nucleicos de la invención pueden estar bajo el control de uno o más promotores. Por ejemplo, las moléculas de ácidos nucleicos pueden estar bajo el control de un promotor constitutivo o de un promotor inducible. Los promotores de ejemplo incluyen los promotores derivados a partir del
10 citomegalovirus humano, el promotor de metalotioneína, el promotor temprano de SV-40, el promotor tardío de SV-40, el promotor de virus de tumor mamario de murino, el promotor de virus de sarcoma de Rous, el promotor de polihedrina, u otros promotores que muestren ser efectivos para su expresión en células eucarióticas.

15 **[00138]** La invención también incluye células hospederas que comprenden una molécula de ácido nucleico o un vector de la invención. "Célula hospedera" significa una célula o población de células en donde se introduce una molécula de ácido nucleico o un vector de la invención. Una célula hospedera de la presente
20 invención es de preferencia una célula o línea celular eucariótica, preferiblemente una célula o línea celular de planta, animal, vertebrado, mamífero, roedor, ratón, primate, o humana. "Una población de células hospederas" significa un grupo de células cultivadas en donde se puede introducir y expresar una molécula de
25 ácido nucleico o un vector de la presente invención. Se pretenden

cualesquiera células hospederas que soporten la expresión a partir de una molécula de ácido nucleico o de un vector de la invención. Aunque se prefiere que una población de células hospederas sea un monocultivo, es decir, en donde cada célula de la población sea del mismo tipo de célula, también se contemplan los cultivos mixtos de células. Las células hospederas de la presente invención pueden ser adherentes, es decir, células hospederas que crezcan unidas a un sustrato sólido, o de una manera alternativa, las células hospederas pueden estar en suspensión. Las células hospederas pueden ser células derivadas a partir de tumores primarios, células derivadas a partir de tumores metastásicos, células primarias, células que hayan perdido la inhibición de contacto, células primarias transformadas, células primarias inmortalizadas, células que puedan sufrir apoptosis, y líneas celulares derivadas a partir de las mismas.

[00139] La invención también incluye métodos para producir un anticuerpo de la presente invención, comprendiendo el método: (i) cultivar una célula hospedera que exprese una o más secuencias de ácidos nucleicos que codifiquen un anticuerpo de la presente invención, y (ii) recuperar el anticuerpo a partir del medio de cultivo.

20 **COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS**

[00140] Los anticuerpos anti-IL-6 de la invención se pueden incorporar en composiciones farmacéuticas adecuadas para su administración a un sujeto. Típicamente, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo o porción de anticuerpo de la invención, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Como se utiliza en la

presente, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y demoradores de absorción, y similares, que sean fisiológicamente compatibles. Los
5 ejemplos de los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen uno o más de agua, suero, suero regulado con fosfato, dextrosa, glicerol, etanol, y similares, así como combinaciones de los mismos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo azúcares, poli-alcoholes, tales como manitol, sorbitol, o
10 cloruro de sodio en la composición. Los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden comprender además cantidades menores de sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes o emulsionantes, conservadores o reguladores del pH, que mejoren la vida de anaquel o la efectividad del anticuerpo o de la porción de
15 anticuerpo.

[00141] Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden estar en una variedad de formas. Éstas incluyen, por ejemplo, las formas de dosificación líquidas, semi-sólidas, y sólidas, tales como soluciones líquidas (por ejemplo, soluciones inyectables
20 e infundibles), dispersiones o suspensiones, tabletas, píldoras, polvos, liposomas y supositorios. La forma preferida depende del modo de administración pretendido y de la aplicación terapéutica. Las composiciones preferidas típicas están en la forma de soluciones inyectables o infundibles, tales como composiciones similares a
25 aquéllas utilizadas para la inmunización pasiva de seres humanos

con otros anticuerpos. El modo de administración preferido es parenteral (por ejemplo, intravenoso, subcutáneo, intraperitoneal, intramuscular). En una realización preferida, el anticuerpo se administra mediante infusión o inyección intravenosa. En otra
5 realización preferida, el anticuerpo se administra mediante inyección intramuscular o subcutánea.

[00142] Las composiciones terapéuticas típicamente deben ser estériles y estables bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición se puede formular como una
10 solución, microemulsión, dispersión, liposoma, u otra estructura ordenada adecuada para una alta concentración de fármaco. Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar mediante la incorporación del compuesto activo (es decir, el anticuerpo o la porción de anticuerpo) en la cantidad requerida, en un solvente
15 apropiado, con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, como se requiera, seguido por esterilización filtrada. En términos generales, las dispersiones se preparan mediante la incorporación del compuesto activo en un vehículo estéril que contenga un medio de dispersión básico, y los otros ingredientes
20 requeridos a partir de aquéllos enumerados anteriormente. En el caso de los polvos estériles para la preparación de las soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación preferidos son secado al vacío y secado por congelación, que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado a
25 partir de una solución previamente filtrada estéril del mismo. Se

puede mantener la fluidez apropiada de una solución, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partículas requerido en el caso de la dispersión, y mediante el uso de tensoactivos. Se puede provocar una absorción prolongada de las composiciones inyectables incluyendo en la composición un agente que demore la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

[00143] Los anticuerpos anti-IL-6 de la presente invención se pueden administrar mediante una variedad de métodos conocidos en este campo, aunque, para muchas aplicaciones terapéuticas, la vía/el modo de administración preferido es la inyección o infusión intravenosa. Como será apreciado por el experto, la vía y/o el modo de administración variarán dependiendo de los resultados deseados. En ciertas realizaciones, el compuesto activo se puede preparar con un vehículo que proteja al compuesto contra la liberación rápida, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes, parches transdérmicos, y sistemas de suministro microencapsulados. Se pueden utilizar polímeros biocompatibles y biodegradables, tales como etileno-acetato de vinilo, poli-anhídridos, poli-ácido glicólico, colágeno, poli-orto-ésteres, y poli-ácido láctico. Muchos métodos para la preparación de estas formulaciones están patentados o son generalmente conocidos por los expertos en la materia. Véase, por ejemplo, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, Editor, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1978.

108

Nov.
26th

PATENTE DE INVENCION

09/7783

TOMO 2/2

2/3
7783/09

- [00144] En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-IL-6 de la invención se puede administrar oralmente, por ejemplo, con un diluyente inerte o con un vehículo comestible asimilable. El compuesto (u otros ingredientes, si se desea), también se puede encerrar en una cápsula de gelatina de cubierta dura o blanda, se puede comprimir en tabletas, o se puede incorporar directamente en la dieta del sujeto. Para la administración terapéutica oral, los compuestos se pueden incorporar con excipientes, y se pueden utilizar en la forma de tabletas ingeribles, tabletas bucales, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas, y similares. Para administrar un compuesto de la invención mediante una administración diferente de la parenteral, puede ser necesario recubrir el compuesto con, o co-administrar el compuesto con, un material para prevenir su inactivación.
- [00145] También se pueden incorporar compuestos activos complementarios en las composiciones. En ciertas realizaciones, un anticuerpo o una porción de anticuerpo de la invención se co-formula y/o se co-administra con uno o más agentes terapéuticos adicionales. En algunas realizaciones, el uno o más agentes terapéuticos adicionales son un agente o agentes para el tratamiento de una enfermedad o condición como se describe en la presente, en particular una enfermedad o un trastorno como se describe en la sección titulada como "usos terapéuticos de anticuerpos anti-IL-6 de la invención". Por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-6 de la invención se puede co-formular y/o co-administrar con uno o más anticuerpos

adicionales que se enlacen con IL-6 u otros objetivos, por ejemplo anticuerpos que se enlacen con el receptor de IL-6.

[00146] Como se utilizan en la presente, los términos "tratar"

y "tratamiento" se refieren al tratamiento terapéutico, incluyendo las

5 medidas profilácticas o preventivas, en donde el objeto es prevenir o

hacer más lento (aminorar) un cambio fisiológico indeseado asociado

con una enfermedad o con un trastorno. Los resultados clínicos

benéficos o deseados incluyen, pero no se limitan a, el alivio de los

síntomas, la disminución de la extensión de la enfermedad o del

10 trastorno, la estabilización de una enfermedad o trastorno (es decir,

cuando no empeora la enfermedad o el trastorno), la demora o el

alentamiento del progreso de una enfermedad o trastorno, la

aminoración o la paliación de la enfermedad o trastorno, y la

remisión (ya sea parcial o total) de la enfermedad o del trastorno, ya

15 sea detectable o indetectable. "Tratamiento" también puede significar

prolongar la sobrevivencia, comparándose con la sobrevivencia

esperada si no se recibe el tratamiento. Los que necesitan

tratamiento incluyen aquéllos que ya tienen la enfermedad o el

trastorno, así como aquéllos susceptibles a tener la enfermedad o el

20 trastorno, o aquéllos en los que se deba prevenir la enfermedad o el

trastorno.

[00147] Las composiciones farmacéuticas de la invención

pueden incluir una "cantidad terapéuticamente efectiva" o una

"cantidad profilácticamente efectiva" de un anticuerpo anti-IL-6 de la

25 invención. Una "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una

cantidad efectiva, en las dosificaciones y durante los períodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico deseado. Una cantidad terapéuticamente efectiva del anticuerpo puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo, y el peso del individuo, y la capacidad del anticuerpo o de la porción del anticuerpo para provocar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad terapéuticamente efectiva también es una en donde cualesquiera efectos tóxicos o perjudiciales del anticuerpo o de la porción de anticuerpo son sobrepasados por los efectos terapéuticamente benéficos. Una "cantidad profilácticamente efectiva" se refiere a una cantidad efectiva, en las dosificaciones y durante los períodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado profiláctico deseado. Típicamente, debido a que se utiliza una dosis profiláctica en los sujetos antes o en una etapa más temprana de la enfermedad, la cantidad profilácticamente efectiva será menor que la cantidad terapéuticamente efectiva.

[00148] Los regímenes de dosificación se pueden ajustar para proporcionar la respuesta óptima deseada (por ejemplo, una respuesta terapéutica o profiláctica). Por ejemplo, se puede administrar un solo bolo, se pueden administrar varias dosis divididas a través del tiempo, o la dosis se puede reducir o incrementar proporcionalmente, como sea indicado por las exigencias de la situación terapéutica. Es especialmente conveniente formular las composiciones parenterales en una forma unitaria de dosificación para mayor facilidad de administración y uniformidad de

la dosificación. La forma unitaria de dosificación, como se utiliza en la presente, se refiere a unidades físicamente separadas adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos mamíferos que se vayan a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad previamente
5 determinada del compuesto activo, calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para las formas unitarias de dosificación de la invención es dictada por, y depende directamente de: (a) las características únicas del compuesto activo, y el efecto terapéutico o
10 profiláctico particular que se vaya a lograr, y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de la composición, tales como un compuesto activo para el tratamiento de sensibilidad en los individuos.

[00149] Un intervalo de ejemplo no limitante para una cantidad terapéuticamente o profilácticamente efectiva de un
15 anticuerpo anti-IL-6 de la invención es de 0.1 a 20 miligramos/kilogramo, más preferiblemente de 1 a 10 miligramos/kilogramo. Se debe observar que los valores de dosificación pueden variar con el tipo y la severidad de la condición que se vaya a aliviar. Además se debe entender que, para cualquier
20 sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse a través del tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el juicio profesional de la persona que administre o supervise la administración de las composiciones, y que los intervalos de dosificación estipulados en la presente son solamente de ejemplo, y
25 no pretenden limitar el alcance o la práctica de la composición

reivindicada.

USOS TERAPÉUTICOS DE LOS ANTICUERPOS ANTI-IL-6 DE LA INVENCION.

5 [00150] Los anticuerpos de la presente invención se pueden utilizar para tratar cualquier enfermedad o trastornos mediado por, asociado con, o causado por la acción de IL-6. Por ejemplo, los anticuerpos de la invención se pueden utilizar para tratar una enfermedad o trastorno que resulte del enlace de IL-6 con un receptor de IL-6. Los anticuerpos de la invención se pueden utilizar para tratar una enfermedad o trastorno causado por un evento de señalización intracelular que resulte, directa o indirectamente, del enlace de IL-6 con un receptor de IL-6. Las sendas de señalización de IL-6 intracelulares de ejemplo se ilustran en la Figura 11. Los anticuerpos de la presente invención se pueden utilizar para tratar cualquier enfermedad o trastorno que sea causado por, o que esté asociado con, la actividad de cualquiera de las moléculas ilustradas en la Figura 11, cuyas actividades son influenciadas por el enlace de IL-6 con un receptor de IL-6.

20 [00151] Por consiguiente, la presente invención incluye métodos para el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por, asociado con, o causado por la acción de IL-6. Los métodos comprenden administrar a un paciente que lo necesite, un anticuerpo anti-IL-6 como se da a conocer en la presente. La expresión "un anticuerpo anti-IL-6 como se da a conocer en la presente" pretende significar cualquier anticuerpo anti-IL-6 que comprenda cualquiera de

25

las regiones VH y/o de las regiones VL estipuladas en la presente, así como cualquier anticuerpo anti-IL-6 que comprenda una variante de cualquiera de las regiones VH estipuladas en la presente, y/o una variante de cualquiera de las regiones VL estipuladas en la presente.

5 Un "anticuerpo anti-IL-6 como se da a conocer en la presente", también pretende significar cualquier anticuerpo anti-IL-6 que comprenda una o más regiones determinantes de complementariedad de VH (por ejemplo, CDR1, CDR2, y CDR3), y/o una o más regiones determinantes de complementariedad de VL (por ejemplo, CDR1, 10 CDR2, y/o CDR3) dadas a conocer en la presente. De una manera preferible, los anticuerpos se enlazan específicamente con un antígeno de IL-6.

[00152] En algunas realizaciones, la enfermedad o el trastorno que se va a tratar, se selecciona a partir del grupo que 15 consiste en una enfermedad o trastorno autoinmune, una enfermedad o trastorno asociado con una angiogénesis aberrante o inapropiada, cáncer, osteoartritis, artritis juvenil idiopática, y condiciones fibróticas.

[00153] En una realización de ejemplo, la invención 20 proporciona un método para el tratamiento de una enfermedad o trastorno autoinmune, en donde el método comprende administrar a un paciente que lo necesite, un anticuerpo anti-IL-6 como se da a conocer en la presente. Las enfermedades y trastornos autoinmunes de ejemplo que se pueden tratar con un anticuerpo anti-IL-6 de la 25 invención incluyen, por ejemplo, rechazo de aloinjerto, enfermedad

MA

de tiroides autoinmune (por ejemplo, enfermedad de Graves, y tiroiditis de Hashimoto), uveo-retinitis autoinmune, arteritis de células gigantes, enfermedades inflamatorias del intestino (incluyendo, por ejemplo, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, enteritis regional, enteritis granulomatosa, ileítis distal, ileítis regional, e ileítis terminal), diabetes mellitus dependiente de insulina, esclerosis múltiple, anemia perniciosa, soriasis, artritis, artritis reumatoide, sarcoidosis, esclerodermia, y lupus eritematoso sistémico.

- 10 **[00154]** La invención incluye métodos para el tratamiento de las enfermedades y trastornos asociados con una angiogénesis aberrante o inapropiada, en donde el método comprende administrar a un paciente que lo necesite, un anticuerpo anti-IL-6 como se da a conocer en la presente. Las enfermedades y trastornos de ejemplo
- 15 asociados con una angiogénesis aberrante o inapropiada que se pueden tratar con un anticuerpo anti-IL-6 de la invención incluyen, por ejemplo, enfermedades cardiovasculares, tales como angioma, angiofibroma, deformidad vascular, aterosclerosis, sinequia y esclerosis edémica, y enfermedades oftalmológicas, tales como
- 20 neovascularización después de implante de córnea, glaucoma neovascular, retinopatía diabética, enfermedad de córnea angiogénica, degeneración macular, pterigio, degeneración retinal, fibroplasias retrolentales, y conjuntivitis granular. Las enfermedades inflamatorias que están asociadas con una angiogénesis inapropiada
- 25 que se pueden tratar con un anticuerpo anti-IL-6 de la invención

incluyen, por ejemplo, artritis, enfermedades dermatológicas tales como soriasis, telangiectasis, granuloma piogénico, dermatitis seborreica, úlceras venosas, acné, rosácea, acné rosácea o eritematosa), verrugas, eczema, hemangiomas, y linfangiogénesis.

5 **[00155]** La invención incluye métodos para el tratamiento de un cáncer, en donde el método comprende administrar a un paciente que lo necesite, un anticuerpo anti-IL-6 como se da a conocer en la presente. Los cánceres de ejemplo que se pueden tratar con un anticuerpo anti-IL-6 de la invención incluyen, por ejemplo, cánceres
10 que se presenten por anormalidades celulares inmunes, incluyendo cánceres mieloides, tales como mieloma múltiple, y leucemia mielógena (CML), así como leucemia linfocítica (CLL y ALL), y linfomas, en particular linfoma no de Hodgkin (NHL). Los anticuerpos de la invención también se pueden utilizar para tratar, por ejemplo,
15 carcinoma renal, cáncer de mama, cáncer de próstata, linfoma, linfoma posterior a trasplante, y enfermedad linfoproliferativa posterior a trasplante (también denominada como trastorno linfoproliferativo posterior a trasplante).

20 **[00156]** Las condiciones adicionales que se pueden tratar con los anticuerpos anti-IL-6 de la invención incluyen, por ejemplo, osteoartritis, artritis juvenil idiopática, artritis reumatoide, y condiciones fibróticas (tales como cicatrización interna y externa de órganos).

25 **[00157]** La invención también incluye el uso de un anticuerpo de la presente invención para la fabricación de un medicamento para

el tratamiento de una enfermedad o trastorno como se describe en la presente.

[00158] Como será fácilmente evidente para un experto ordinario en la técnica pertinente, otras modificaciones y adaptaciones adecuadas a las composiciones, a los métodos, y a las aplicaciones descritas en la presente, son obvias y se pueden hacer sin apartarse del alcance de la invención o de cualquier realización de la misma. Habiendo ahora descrito la presente invención con detalle, la misma será más claramente entendida haciendo referencia a los siguientes Ejemplos, los cuales se incluyen a la presente para propósitos de ilustración solamente, y no pretenden ser limitantes de la invención.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

PRIMERA GENERACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES HUMANOS QUE SE ENLAZAN ESPECÍFICAMENTE CON IL-6

[00159] El propósito de este Ejemplo fue hacer anticuerpos monoclonales anti-IL-6 humanos, empezando a partir del anticuerpo de IL-6 de murino conocido como B-E8 (también conocido como Elsilimomab).

[00160] Se llevó a cabo un proceso de rastreo utilizando una plataforma de selección de anticuerpo basada en virus de vacuna con el objeto de identificar las regiones VH y VK humanas que, al emparejarse con las regiones VK o VH del anticuerpo B-E8 de murino, formaran anticuerpos que se enlazaran específicamente con

IL-6. Entonces se utilizaron las VH y VK humanas seleccionadas para seleccionar las VK y VH humanas, respectivamente, que se enlazaran específicamente con la IL-6. Los detalles de la plataforma de rastreo basada en virus de vacuna se dan a conocer, por ejemplo, en la Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 2005/0196755. A partir de este proceso de rastreo, utilizando B-E8 de murino o bien VH humana, se identificaron 18 genes de VK humana diferentes. Se determinaron las secuencias de ácidos nucleicos de los genes VK humanos identificados, y sus secuencias de aminoácidos correspondientes. Las secuencias de aminoácidos de los genes VK humanos identificados se estipulan en la siguiente Tabla 8:

Tabla 8
Secuencias de aminoácidos de las regiones VK humanas
identificadas

VK	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO:
L112	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSI <u>SDYLHWYQQKSHESPR</u> LLIKSVSQSISGIPSRFSGSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVYYC <u>QNG</u> <u>HSFPLTFGAGTKLELK</u>	1
L151	EIVLTQSPGTL ¹ SLSPGERATLSC <u>RASQTIDSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLVY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSDSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YAKSPITFGQG</u> TKLE	2

MS

VK	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO:
5 L158	DVVM TQSPSSVSASVGDRV TITCRASQDIDNFLAWYQQKPGKAPN LLIYKVSSLRSGVPSRFSGSRSGTDFTLTITSLQPEDFATYFCQQTR RFPLTFGPGTKLE	3
L159	DIVMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQTISSYLNWYQQKPGKPPKL LIYAASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDLATYYCQQAN SFPLTFGGGKLE	4
10 L164	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISTYLNWYQQKLGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDLATYYCQQSY RPLTFGGGKLEIK	5
15 L165	DIQMTQSPSSLSASVGDSVTITCRASQSISIYLNWYQQKPGKAPDL LIYATSTLQSGVPSRFSGRSGTHFTLTIDSLQPEDFATYYCQQTY RNLFTFGQGKLE	6
L166	DIQMTQSPSSLSASVGDSVTITCRASQKMRTYLHWYQQKPGKAP KLLIYDVSFLQNGVPSRFSGRASGTEFTLTISDLQPEDFATYYCQQ SYDTPLTFGQGKLEIK	7
20 L167	DVVM TQSPSSVSASVGDRV TITCRASQVIDSWLHWYQREPGKAP KILIYAATTLQRGVPSRFSGSGFGTEFTLTISGLQPEDFATYFCQQG YSFPITFGQGTRLEIK	8
25 L168	DVVM TQSPSSLSASVGGRVTITCRASQTIGDYLNWYQQKPGKAPR	9

VK	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO:
5	LLIY <u>SASIVQSG</u> VPSRFSASGSGTDFTLTISLQPEDFATYSC <u>QQSY</u> <u>SFPLTF</u> GGGKLEIK	
	L169 EIVLTQSPSSLSASAGDTVTIAC <u>RASQG</u> IRTALAWYQQKPGRNPKL LISEA <u>YRLQSG</u> VSPKFSGSGFGTDFTLTINSLQPEDFATYYC <u>QQFN</u> <u>DFPLTF</u> GGGKLEIK	10
10	L170 DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT <u>CRASQ</u> SISRWLAWYQQKPGKAPK LLISK <u>ASSLEY</u> GVPSRFSGSGSGTEFALTISNVQPEDFATYYC <u>QQS</u> <u>FAVPLTF</u> GGGKLEIK	11
15	L171 DIQMTQSPSSLSAFVGDGVTMTC <u>WASQ</u> SINDYLNWYHQRPGEAP ELLVFA <u>AASN</u> LQIGVPSRFRGSGSETYFTLTINSLQPEDSGTYFC <u>QQ</u> <u>TSSFPLTF</u> GGGKLE	12
	L172 DIQMTQSPSSLSASVGDSVTIT <u>CRASQ</u> TISDFLNWYQQKPGKAPKL LIH <u>ASSNLQSG</u> VPSRFSGSGSGTDFTLTISDLQPEDFATYSC <u>QQTY</u> <u>STLGT</u> FGQGTRLE	13
20	L173 DVVMTQSPSSLSASVGGRVTIT <u>CRASQ</u> TIGDYLNWYQQRPGKAP RLLIY <u>SASIVQSG</u> VPSRFSGSGSGTHFTLTISLQPEDFATYSC <u>QQS</u> <u>YSFPLTF</u> GGGKLEIK	14
25	L174 DIVMTQSPSSLSASVGDRVITIT <u>CRASR</u> NINTYLNWYQQKPGKAPKL LVH <u>SASTLQSG</u> APSRFSGSGYGTEFTLISSLQPDDFATYYC <u>QQGY</u>	15

VK	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO:
	<u>N</u> TLTFGPGTKLE	
L175	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQNIIDYLNWYQHKGKVP IS <u>G</u> TS <u>T</u> LQSGVPSRFSGSGFGTDFTLTISVQPEDVATYYCQQGH GTPLSFGGGKLEIK	16
L189	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSMSDYLNWYQQKPGKAP KLLIYSA <u>S</u> GLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIIINLQPEDVAAYYCQQ SFSFPLTFGPGTKLEIK	17
L198	DIQMTQSPSSLSAFVGDGVTMTCWASQSINDYLNWYHQRPG ELLVFAASNLQIGVPSRFRGSGSETYFTLTINSLQPEDSGTYFCQN GHSFPLTFGGGKLEI	18

Las secuencias subrayadas representan las CDRs 1 a 3, respectivamente.

[00161] En adición, utilizando ya sea el gen de B-E8 de murino o la VK humana, se identificaron 7 genes de VH humana diferentes. Se determinaron las secuencias de ácidos nucleicos de los genes de VH humana identificados, y sus secuencias de aminoácidos correspondientes. Las secuencias de aminoácidos de los genes de VH humana identificados se estipulan en la siguiente Tabla 9:

Tabla 9

Secuencias de aminoácidos de las regiones VH humanas identificadas

5	VH	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO:
	H415	QVTLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLTTSGMCVSWIRQPPG KALEWLAL <u>IYWDDDKRYNPSLR</u> SRLTITKDTSKNQVVLTMTNMD PVDTATYYCARSYDDYLYYALDYWGQGLVT	19
10	H884	QVTLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLTTSGMCVSWIRQPPG KALEWLAL <u>IYWDDDKRYNPSLR</u> SRLTITKDTSKNQVVLTMTNMD PVDTATYYCARSHDDYLYYALDYWGQGLVT	20
15	H1077	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLRTSGVSVGWFRQPP GKALEWLAL <u>VYWDDDRRYNPSLKN</u> RLTITRDTSKNQVVLTMTN MDPVDTATYYCARSYDDYLYYALDYWGQGLVT	21
	H1078	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCIFSGFSFKTSGVSVGWIRQPPG KALEWLAL <u>IYWDDDKRYSPSLKN</u> RLTITRDTSKNQVVLTMTNMD PVDTATYYCARSYDDYLYYALDYWGQGLVT	22
20	H1079	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFSLSTSGVGVGWVRQPP GKALEWLAFIFWDDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVLTMTNM DPVDTATYYCARSYDDYLYYALDYWGQGLVT	23
25	H1081	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGVAVGWIRQPPG KALEWLALIFWDDDKHYSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMTNMD	24

119

5

VH	Secuencia de Aminoácidos	SEQ ID NO:
	PVDTATYYCARS <u>YDDYLYYALDYWGQGL</u> TVTVSS	
H1089	QVTLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLST <u>SGM</u> CVSWIRQPPG KALEWLT <u>LIYWDDDKRYSPSLE</u> TRLTITKDTSKNQVVLTMTNMD PVDTATYYCARS <u>YDDYLYYALDYWGQGL</u> TVT	25

Las secuencias subrayadas representan las CDRs 1 a 3, respectivamente.

10

[00162] Las secuencias de aminoácidos de las regiones VH humanas identificadas, exhibieron una identidad de secuencia significativa unas con otras, como se ilustra en la siguiente Tabla 10:

15

Tabla 10
Identities de secuencias de aminoácidos entre las VHs humanas

20

	H1079	H415	H1081	H1078	H1089	H1077
H1079		89	94	90	90	89
H415	89		92	90	95	90
H1081	94	92		93	92	91
H1078	90	90	93		90	94

25

H1089	90	95	92	90		89
H1077	89	90	91	94	89	

5 **[00163]** En la Figura 1 se ilustra una alineación de las regiones VH humanas identificadas.

10 **[00164]** Todas las regiones VKs humanas identificadas se emparejaron cruzadamente con todas las VHs humanas identificadas. Los anticuerpos resultantes de estos emparejamientos cruzados se probaron para determinar su capacidad para enlazarse con IL-6 mediante ELISA. Los anticuerpos también se probaron para determinar su actividad funcional en los ensayos de bloqueo de la proliferación celular inducida por IL-6 o del enlace de IL-6 con IL-6R.

15 **[00165]** Se midió la afinidad de los anticuerpos seleccionados para IL-6 mediante ELISA, basándose en el procedimiento estipulado en *J. of Immunology Methods* 77 (1985) 305-319. Dicho de una manera breve, las placas se recubrieron con 2 microgramos/mililitro de anticuerpo de captura mBE4 en regulador de recubrimiento, a 100 microlitros por pozo. Las placas se incubaron durante la noche. En
20 seguida, las placas se lavaron tres veces, y se secaron. Luego las placas se bloquearon con 200 microlitros por pozo de Diluyente de Ensayo o suero bovino fetal al 10 por ciento en suero regulado con fosfato, y se incubaron durante 2 horas. Mientras las placas se
25 estaban bloqueando, se estableció la reacción de competencia en solución mediante la incubación previa de 65 microlitros del

anticuerpo a una concentración de aproximadamente 2 nanogramos/mililitro con 65 microlitros de diferentes concentraciones de rhIL6 (de 5.12 microgramos/mililitro a 5 nanogramos/mililitro, en diluciones en serie de 1:2, para un total de 12 concentraciones diferentes, incluyendo una sin IL-6). La reacción se dejó a temperatura ambiente durante 3 a 4 horas. Por consiguiente, la rhIL6 final en la solución de competencia fue de 98.46, 49.23, 24.62, 12.31, 6.15, 3.08, 1.54, 0.77, 0.38, 0.19, 0.10 y 0 nM, de acuerdo con IL-6 como el monómero. En seguida, las placas se lavaron tres veces y se secaron. Se agregaron 50 nanogramos/mililitro de IL-6 humana recombinante en 100 microlitros a cada pozo de las placas recubiertas con BE4. Las placas se incubaron durante 1 a 2 horas. Las placas se lavaron tres veces y se secaron. En seguida, se agregaron 100 microlitros de las muestras de anticuerpo monoclonal anteriores a las placas de captura de IL-6. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 2 horas. (Por consiguiente, en este punto, cualquier anticuerpo monoclonal no enlazado será medido por el ELISA). Luego las placas se lavaron cinco veces y se secaron. Se agregaron 100 microlitros del anticuerpo de detección de IgG anti-humano F(ab)'2-HRP (Jackson Lab) en diluciones de 1:20,000 o en diluciones de 1:40,000 (dependiendo del lote), y las placas se incubaron durante 1 a 2 horas. Las placas se lavaron siete veces y se secaron. En seguida, se mezcló previamente el Sustrato Desarrollador (partes iguales de cada agente del kit), y se dejó calentar a temperatura ambiente antes

de usarse. Entonces se agregaron 100 microlitros del Desarrollador a cada pozo. Las placas se dejaron desarrollarse durante 15 minutos sin sellarse en un cajón en la oscuridad. Finalmente, se detuvo el desarrollo mediante la adición de 100 microlitros de H₂SO₄ 2N a cada pozo, y las placas se leyeron como el Punto Final a 450 nanómetros-570 nanómetros.

[00166] El ensayo de bloqueo se condujo como se describe en cualquier otra parte de la presente.

[00167] A partir de los emparejamientos cruzados de VH/VK, se identificaron 33 anticuerpos monoclonales de la primera generación. Estos anticuerpos monoclonales de la primera generación se enlistan en la siguiente Tabla 11:

Tabla 11
Resumen de anticuerpos anti-IL-6 humanos de la primera generación

mAb	VH	VK	Afinidad (IC ₅₀ en nM)	Actividad de bloqueo sobre la proliferación celular inducida por IL-6
88*	H383	L112	0.5	++++
123	H884	L112	1.1	
179	H415	L112	0.85 – 4.2	++
181	H415	L159	12.9	

5

10

15

20

25

mAb	VH	VK	Afinidad (IC ₅₀ en nM)	Actividad de bloqueo sobre la proliferación celular inducida por IL-6
182	H415	L164	6.3	
183	H415	L165	1.75	++
184	H415	L166	2.4	
185	H415	L167	1.5	
186	H415	L168	2.0	
187	H415	L169	2.4	
188	H415	L170	1.4	
189	H415	L171	0.72	
190	H415	L172	1.9	++
191	H415	L173	1.5	
192	H415	L174	2.3	
193	H415	L175	2.7	
197	H884	L167	3.7	
201	H884	L171	2.0	

5

10

15

20

25

mAb	VH	VK	Afinidad (IC ₅₀ en nM)	Actividad de bloqueo sobre la proliferación celular inducida por IL-6
202	H884	L172	2.4	
205	H884	L175	7.4	
237	H1077	L158	6.5	
239	H1078	L158	9.6	
241	H1079	L158	6.5	
242	H1079	L159	2.2	++
246	H1081	L151	5.5	
247	H1081	L158	4.0	
248	H1081	L159	2.0	
265	H415	L189	6.2	
273	H884	L171		
275	H415	L198	0.7	++
285	H1089	L158	2.5	
286	H1089	L159	2.5	

5	mAb	VH	VK	Afinidad (IC ₅₀ en nM)	Actividad de bloqueo sobre la proliferación celular inducida por IL-6
	297	H1081	L172	11.5	+
	416	H1079	L198	0.6	+++

*El mAb 88 es un anticuerpo de control B-E8 quimérico.

10 [00168] Como lo muestra la tabla anterior, todos los anticuerpos anti-IL-6 humanos de la primera generación obtenidos exhibieron algún grado de afinidad por IL-6, y actividad funcional en un ensayo de bloqueo. Brevemente, la IL-6 recombinante humana biotinilada, a 12.5 nanogramos/mililitro, se incubó con los anticuerpos anti-IL-6 en las concentraciones indicadas durante 20 minutos sobre hielo. Luego se agregaron las células U266 bloqueadas con FcR (aproximadamente 250,000 células), y se co-incubaron durante otros 30 minutos sobre hielo. Después de lavarse, se agregó estreptavidina-PE para revelar la IL-6 enlazada a la superficie celular. Después del lavado, las células se analizaron mediante citometría de flujo.

[00169] En la Figura 2 se ilustra la capacidad de ciertos anticuerpos monoclonales de la primera generación de ejemplo para bloquear el enlace de la IL-6 con el receptor de IL-6 en células U266.

25 [00170] Por consiguiente, este ejemplo demuestra la

producción de varios anticuerpos monoclonales anti-IL-6 humanos biológicamente funcionales.

Ejemplo 2

MEJORA DE AFINIDAD DE LOS ANTICUERPOS ANTI-IL-6

5

HUMANOS

[00171] Se utilizó mutagénesis para mejorar adicionalmente la actividad funcional de los anticuerpos monoclonales humanos de la primera generación, identificados en el Ejemplo 1. En particular, se utilizó mutagénesis basada en reacción en cadena de la polimerasa para introducir cambios de secuencias de aminoácidos en la CDR3 de la VH (H1079) y de la VK (L198) del anticuerpo monoclonal 416.

[00172] Con el objeto de introducir variabilidad, se introdujo la secuencia NNK en posiciones específicas de los genes de VH y VK, en donde N puede ser A, T, G, ó C, y K es T ó G. Utilizando NNK, se pueden introducir los 20 aminoácidos y un codón de paro en cada posición (hay 32 posibles combinaciones de 4x4x2 con la secuencia NNK).

[00173] Todos los residuos de CDR3 de ambos H1079 y L198 se cambiaron, un residuo a la vez. La CDR3 de la cadena ligera (VK) tiene 9 aminoácidos, y la CDR3 de la cadena pesada (VH) tiene 12 aminoácidos. Los residuos seleccionados en CDR1 y CDR2 de H1079 se cambiaron utilizando también este proceso.

[00174] Con el fin de crear las mutaciones, un cebador anti-sentido que codifica un aminoácido reemplazado con NNK y que amplifica la CDR3 y la Región de Estructura 4, se emparejó con un

cebador en sentido que se hibrida en la Región de Estructura 1 de la cadena de interés para una reacción en cadena de la polimerasa. Cada producto de la reacción en cadena de la polimerasa codifica la cadena VK ó VH entera, y tiene una posición de aminoácido convertida a NNK.

[00175] Los productos de la reacción en cadena de la polimerasa se clonaron en un vector de expresión de mamífero que contenía el dominio constante de la gamma I humana (para los mutantes de VH), o kappa (para los mutantes de VK), generando de esta manera las cadenas pesada y ligera de longitud completa.

[00176] Los clones se despacharon en un formato de placa de 96 pozos, con un clon por pozo. El ADN del plásmido se purificó a partir de cada clon, y luego se expresó cada clon con la cadena complementaria (por ejemplo, una VK mutada se expresaría con una VH), mediante transfección en células CHO. Los enlazadores de más alta afinidad se seleccionaron y se caracterizaron. En la Figura 3 se muestra un resumen de este procedimiento.

[00177] Cuando se identificaron los mutantes de más alta afinidad, los mutantes se secuenciaron, el anticuerpo monoclonal resultante se produjo mediante transfección en células CHO, y luego se probó para determinar su especificidad, afinidad, y función, en un ensayo de bloqueo de IL-6 basado en citometría de flujo.

[00178] Mediante este proceso, se obtuvieron las siguientes variantes de H1079 y L198:

Tabla 12

Variantes de H1079 obtenidas mediante mutagénesis basada en
reacción en cadena de la polimerasa

5	Cambio de aminoácido*	Secuencia [§]	SEQ ID NO:	Designación de nueva VH
10	S95F	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFS LSTSGVGVGWVRQPPGKALEWLAFIF WDDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVL TMTNMDPVDATYYCARFYYDDYLYAL DYWGQGTLVT	26	H1511
15	Y96A	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFS LSTSGVGVGWVRQPPGKALEWLAFIF WDDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVL TMTNMDPVDATYYCARSADDYLYAL DYWGQGTLVT	27	H1420
20	Y96G	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFS LSTSGVGVGWVRQPPGKALEWLAFIF WDDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVL TMTNMDPVDATYYCARSGDDYLYAL DYWGQGTLVT	28	H1432
25	Y100aM	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFS LSTSGVGVGWVRQPPGKALEWLAFIF	29	H1515

5

10

15

20

Cambio de aminoácido*	Secuencia [§]	SEQ ID NO:	Designación de nueva VH
	<u>WDDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVL</u> TMTNMDPVDTATYYCARSYDDYL <u>M</u> YA <u>LDYWGQGTLVT</u>		
A100cS	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFS LSTSGVGVGWVRQPPGKALEWLA <u>FIF</u> <u>WDDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVL</u> TMTNMDPVDTATYYCARSYDDYLY <u>S</u> L <u>DYWGQGTLVT</u>	30	H1362
L100dF	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFS LSTSGVGVGWVRQPPGKALEWLA <u>FIF</u> <u>WDDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVL</u> TMTNMDPVDTATYYCARSYDDYLYA <u>F</u> <u>DYWGQGTLVT</u>	31	H1437
Y102T	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFS LSTSGVGVGWVRQPPGKALEWLA <u>FIF</u> <u>WDDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVL</u> TMTNMDPVDTATYYCARSYDDYLYA <u>L</u> <u>D</u> <u>T</u> WGQGTLVT	32	H1461

25 * El número de aminoácido representa el número de Kabat.

§ El residuo encerrado en un cuadro es el residuo que se ha cambiado en relación con la secuencia de H1079.

Las secuencias subrayadas representan las CDRs 1 a 3, respectivamente.

5

Tabla 13

Variantes de L198 obtenidas mediante mutagénesis basada en reacción en cadena de la polimerasa

10

15

20

25

Cambio de aminoácido*	Secuencia§	SEQ ID NO:	Designación de nueva VK
N90S	DIQMTQSPSSLSAFVGDGVTMTCWAS QSINDYLNWYHQRPGEAPELLVFAASN LQIGVPSRFRGSGSETYFTLTINSLQPE DSGTYFCQSGHSFPLTFGGGKLEI	33	L314
N90H	DIQMTQSPSSLSAFVGDGVTMTCWAS QSINDYLNWYHQRPGEAPELLVFAASN LQIGVPSRFRGSGSETYFTLTINSLQPE DSGTYFCQHGHSSFPLTFGGGKLEI	34	L305
N90L	DIQMTQSPSSLSAFVGDGVTMTCWAS QSINDYLNWYHQRPGEAPELLVFAASN LQIGVPSRFRGSGSETYFTLTINSLQPE DSGTYFCQLGHSSFPLTFGGGKLEI	35	L303

5

10

Cambio de aminoácido*	Secuencia [§]	SEQ ID NO:	Designación de nueva VK
G91A	DIQMTQSPSSLSAFVGDGVTMTCWAS <u>QSINDYLNWYHQRPGEAPELLVFAASN</u> <u>LQIGVPSRFRGSGSETYFTLTINSLQPE</u> DSGTYFCQNAHSFPLTFGGGTKLEI	36	L298
H92W	DIQMTQSPSSLSAFVGDGVTMTCWAS <u>QSINDYLNWYHQRPGEAPELLVFAASN</u> <u>LQIGVPSRFRGSGSETYFTLTINSLQPE</u> DSGTYFCQNGWSFPLTFGGGTKLEI	37	L321

*El número de aminoácido representa el número de Kabat.

15 [§]El residuo encerrado en un cuadro es el residuo que se ha cambiado en relación con la secuencia de L198.

Las secuencias subrayadas representan las CDRs 1 a 3, respectivamente.

20 **[00179]** Se hicieron los siguientes anticuerpos utilizando las variantes de H1079 estipuladas en la Tabla 12 emparejadas con L198:

25

Tabla 14
Anticuerpos monoclonales hechos mediante el emparejamiento
de las variantes de H1079 con L198

5	Designación de mAb	Variante de H1079	VK	Afinidad (IC₅₀ en nM)
	1123	H1511	L198	0.11
	926	H1420	L198	0.07
10	963	H1432	L198	0.09
	1127	H1515	L198	0.09
	810	H1362	L198	0.22
	968	H1437	L198	0.053
15	992	H1461	L198	0.065

[00180] Se probaron los anticuerpos monoclonales 416, 926, 810, 963, 968, y 992, junto con el anticuerpo monoclonal de control 88, para determinar su capacidad para bloquear el enlace de IL-6 con las células que expresan IL-6R. Dicho de una manera breve, la IL-6 recombinante humana a 1 nM se incubó con los anticuerpos anti-IL-6 a 1 microgramo/mililitro - 0.1 microgramo/mililitro - 10 nanogramos/-mililitro - 0 nanogramos/mililitro durante 30 minutos sobre hielo. Entonces se agregaron las células U266 bloqueadas con FcR (aproximadamente 250,000 células), y se co-incubaron durante

20

25

otros 30 minutos sobre hielo. Después de lavarse, se agregó un anticuerpo de ratón específico de IL-6 purificado (B-F6), y se incubó con las células durante 30 minutos sobre hielo. Finalmente, se agregó un Fc gamma de cabra anti-ratón policlonal conjugado con APC, y se incubó durante 30 minutos sobre hielo. Después del lavado, las células se analizaron mediante citometría de flujo, pasando la compuerta sobre la población de células vivas solamente. Cada muestra empezó con 250,000 células. Todos los datos de citometría de flujo se basan en un mínimo de 10,000 células vivas (negativas para PI). Los resultados de estos experimentos se estipulan en la Figura 4.

[00181] Se hicieron los siguientes anticuerpos utilizando las variantes de L198 estipuladas en la Tabla 13, emparejadas con H1079:

15

Tabla 15
Anticuerpos monoclonales hechos mediante el emparejamiento de las variantes de L198 con H1079

20

25

Designación de mAb	Variante de L198	VH	Afinidad (IC ₅₀ en nM)
774	L314	H1079	0.16
770	L305	H1079	0.12
765	L298	H1079	0.07

Designación de mAb	Variante de L198	VH	Afinidad (IC ₅₀ en nM)
808	L321	H1079	0.08

5

[00182] También se prepararon múltiples mutaciones en H1079 mediante el procedimiento ilustrado anteriormente.

Tabla 16

10

Múltiples mutantes de H1079 obtenidos mediante mutagénesis basada en reacción en cadena de la polimerasa

Cambios de aminoácidos*	Secuencia [§]	SEQ ID NO:	Designación de nueva VH
Y96A A100cS	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFS LSTSGVGVGWVRQPPGKALEWLAFIFW DDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVL MTNMDPVDATYYCARSADDYLYYSL DYWGQGTLVT	38	H1519
Y96A L100dF	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFS LSTSGVGVGWVRQPPGKALEWLAFIFW DDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVL MTNMDPVDATYYCARSADDYLYYAF DYWGQGTLVT	39	H1520

15

20

25

5

10

Cambios de aminoácidos*	Secuencia [§]	SEQ ID NO:	Designación de nueva VH
Y96A A100cS L100dF	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFS <u>LSTSGVGVGWVRQPPGKALEWLAFIFW</u> <u>DDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVL</u> T MTNMDPVDTATYYCARS <u>A</u> <u>DDYLYY</u> <u>SF</u> <u>DYWGQGTLVT</u>	40	H1521
Y96A A100cS L100dF Y102T	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFS <u>LSTSGVGVGWVRQPPGKALEWLAFIFW</u> <u>DDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVL</u> T MTNMDPVDTATYYCARS <u>A</u> <u>DDYLYY</u> <u>SF</u> <u>DT</u> <u>WGQGTLVT</u>	41	H1522

15

* El número de aminoácido representa el número de Kabat.
§ Los residuos encerrados en un cuadro son los residuos que se han cambiado en relación con la secuencia de H1079.

Las secuencias subrayadas representan las CDRs 1 a 3, respectivamente.

20

[00183] En adición, se creó una cadena pesada variante, designada como H1553, haciendo un solo cambio de aminoácido (F52W) en la CDR2 de H1079. H1553 tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

25

[00184] QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFSLLSTSGVGVGW

VRQPPGKALEWLAFIWWDDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVLTMNTN
MDPVDTATYYCARSYDDYLYYALDYWGQGTLVT (SEQ ID NO:42).

[00185] Adicionalmente, el cambio de aminoácido encontrado en la CDR2 de H1553 se cambió con las cuatro sustituciones de aminoácidos de la CDR3 en H1522, para crear la H1579, que tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

[00186] QVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFSLSTSGVGVGW
VRQPPGKALEWLAFIWWDDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVLTMNTN
MDPVDTATYYCARSADDYLYYSFDTWGQGTLVT (SEQ ID NO:43).

[00187] Se obtuvieron los siguientes anticuerpos monoclonales mediante la combinación de las variantes de VH y VK, como se muestra en la siguiente Tabla 17.

Tabla 17
Anticuerpos monoclonales creados mediante la combinación de las variantes de VH y VK

Designación de mAb	Variante de VH	Variante de VK	Afinidad (IC ₅₀ en nM)
1154	H1522	L198	0.027
1155	H1522	L305	0.032
1156	H1522	L314	0.023
1192	H1553	L198	0.029

5

10

Designación de mAb	Variante de VH	Variante de VK	Afinidad (IC ₅₀ en nM)
1259	H1579	L198	0.028
1337	H1579	L305	0.047
1338	H1579	L314	0.031
1339	H1579	L298	0.026
1340	H1579	L321	0.028

15

20

25

[00188] Se determinó la afinidad de los anticuerpos monoclonales de ejemplo por la IL-6 mediante ELISA de IC₅₀, y mediante Biacore, como se muestra en la Tabla 18 que se encuentra más adelante. El ELISA de IC₅₀ se llevó a cabo como se describe anteriormente. El análisis de afinidad mediante Biacore se llevó a cabo de acuerdo con los protocolos del fabricante, utilizando el regulador de HBS-EP (Biacore AB). Brevemente, 100 microgramos/mililitro de IgG de cabra anti-humano (Sigma-Aldrich Co.) se inmovilizaron sobre la superficie de un chip sensor CM5 (Biacore AB), con afinidad por cada anticuerpo monoclonal IL-6, determinada mediante la inyección de 15 microlitros de 5 microgramos/mililitro del anticuerpo monoclonal, a una velocidad de flujo de 5 microlitros/minuto, seguida por la inyección de 100 microlitros de IL-6 humana 40 nM a 1.25 nM (Strathmann Biotec

GmbH & Co. KG), a una velocidad de flujo de 30 microlitros/minuto, en un sistema Biacore 2000 (Biacore AB).

Tabla 18

5 **Afinidad de anticuerpos monoclonales mediante ELISA de IC₅₀ y Biacore**

	mAb	Afinidad (nM) mediante ELISA de IC₅₀	Afinidad (nM) mediante Biacore
10	88 (B-E8 quimérico)	0.01	0.02
	1339	0.026	0.071
	1259	0.028	0.093
15	1340	0.028	<i>no determinada</i>
	1338	0.031	0.072
	1337	0.047	<i>no determinada</i>
20	926	0.033	0.13
	416	0.056	0.3

[00189] Los anticuerpos monoclonales 1259, 1337, 1338,
25 1339 y 1340 son IgG1 kappa. Todos los dominios constantes son

iguales. Los dominios constantes están en los plásmidos de expresión, y por consiguiente, no varían de anticuerpo monoclonal a anticuerpo monoclonal. Solamente se seleccionaron los dominios VH y VK a partir de la biblioteca.

5 **[00190]** Por consiguiente, el ejemplo ilustra la producción de varios anticuerpos monoclonales anti-IL-6 humanos adicionales, que comprenden las cadenas VH y VK variantes obtenidas mediante mutagénesis basada en reacción en cadena de la polimerasa.

Ejemplo 3

10

SECUENCIAS Y VECTORES

SECUENCIAS DE CADENA PESADA Y LIGERA DE EJEMPLO

[00191] En la Tabla 19 se ilustran las secuencias de nucleótidos que codifican las cadenas pesada y ligera del anticuerpo monoclonal de murino B-E8:

15

Tabla 19

Secuencias de cadena pesada y ligera de B-E8

Cadena pesada del mAb B-E8	
	GTCGACCCACGCGTCCGGACatggacaggcttacttcttcattcctgctgctgattgtccctgcatatgtctt
	gtccCAAGTTACTCTAAAAGAGTCTGGCCCTGGGATATTGAAGCCCTCACAG
20	ACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCTGGGTTTTCACTGAGC <u>ACTTCTGGT</u>
	<u>ATGGGTGTAGGCT</u> TGGATTCTGTCAGCCTTCAGGGAAGGGTCTGGAGTGGC
	TGGCA <u>CACATTTGGTGGGATGATGATAAGTACTATAACCCATCCCTGA</u>
	<u>AGAGCC</u> AGCTCACAATCTCCAAGGATACCTCCAGAAACCAGGTATTCCTC
	AAGATCACCAGTGTGGACACTGCAGATACTGCCACTTACTACTGTGCTCG
25	

<u>ATCCTATGATGACTATCTTTACTATGCTTTGGACTACTGGGGTCAAGGA</u> ACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACGACACCCCCATCTGTCTATCCACT GGCCCCCTGGATCTGC (SEQ ID NO:44)
Las letras minúsculas representan la secuencia líder. Las⁵ secuencias subrayadas representan las CDRs 1 a 3, respectivamente. Las letras en itálicas representan la secuencia Cy1 de ratón.
Cadena ligera del mAb B-E8 GTCGACCCACGCGTCCGGAAAATTTGAAGatggtgtccacttctcagctccttggacttttgctttt ctggacttcagcctccagatgtGACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGT 10 GACTCCAGGAGATAGAGTCTCTCTTTCTGC<u>AGGGCCAGCCAGAGTATT</u> <u>AGCGACTACTTACACT</u>TGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGC TTCTCATCAAAT<u>TCTGTTTCCCAATCCATCTCT</u>GGGATCCCCTCC AGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGTCAGATTTCACTCTCAGTATC AAGAGTGTGGAACCTGAAGATGTTGGAGTGTATTACTGT<u>CAAAATGGTCACAG</u> <u>CTTTCCGCTCACG</u>TTCCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAACGGGCTGATGCTGC ACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCATGCGAGATTCTGAACATCT (SEQ ID NO:45)
Las letras minúsculas representan la secuencia líder. Las²⁰ secuencias subrayadas representan las CDRs 1 a 3, respectivamente. Las letras en itálicas representan la secuencia Cκ de ratón.

[00192] En la Tabla 20 se ilustran las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo monoclonal humano 926:

25

Tabla 20

Secuencias de cadena pesada y ligera del anticuerpo monoclonal
926

5	Cadena pesada del mAb 926
	MGWSCIILFLVATATGAHSQVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFSLSTSGVG
	VGWVRQPPGKALEWLAFIFWDDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVLMTN
	MDPVDATYYCARSADDYLYYALDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS
	KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
10	VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
	SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
	PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
	PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP
	PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
15	K (SEQ ID NO:46)
	Cadena ligera del mAb 926
	MGWSCIILFLVATATGVHSDIQMTQSPSSLSAFVGDGVTMTCWASQSINDYL
	NWYHQRPGEAPPELLVFAASNLQIGVPSRFRGSGSETYFTLTINSLQPEDSGTYF
20	CQNGHSFPLTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
	REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVY
	ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:47)

[00193] En la Tabla 21 se ilustran las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo

monoclonal humano 1339:

Tabla 21

Secuencias de cadena pesada y ligera del anticuerpo monoclonal
1339

5	Cadena pesada del mAb 1339 MGWSCILFLVATATGAHSQVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCSFSGFSLSTSGVG VGWVRQPPGKALEWLAFIWWDDDKYYSPSLESRLTITKDTSKNQVVLMTN MDPVDTATYYCARSADDYLYYSFDTWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K (SEQ ID NO:48)
20	Cadena ligera del mAb 1339 MGWSCILFLVATATGVHSDIQMTQSPSSLSAFVGDGVTMTCWASQSINDYL NWKYHQRPGEAPELLVFAASNLIQGVPSRFRGSGSETYFTLTINSLQPEDSGTYF CQNAHSFPLTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:49)
25	

CONSTRUCCIÓN DEL VECTOR DE DOBLE GEN QUE EXPRESA LAS CADENAS PESADA Y LIGERA DEL ANTICUERPO MONOCLONAL 1339.

CLONACIÓN DE LA CADENA PESADA H1579 EN pCONG1.

5 **[00194]** La H1579 se subclonó a partir del vector de expresión original, mediante la digestión de la región variable con las enzimas de restricción BssHII y BstEII en el vector pesado pACeL. La H1579pAcEL-H se digirió con HindIII/ApaI, y se ligó en el pConG1 cortado con HindIII/ApaI. Se verificó la secuencia del clon
10 H1579.pConG1.

CLONACIÓN DE LA CADENA LIGERA L298 en pCONK2.

[00195] La L298 se subclonó a partir del vector de expresión original, mediante la digestión de la región variable con ApaI/XhoI, y ligando en un vector de transferencia de vacuna VKE para
15 proporcionar la secuencia compatible que codificaba los sitios de restricción necesarios para la siguiente clonación de doble gen. La secuencia variable se amplificó con reacción en cadena de la polimerasa para agregar el sitio HindIII en el extremo 5', y el sitio BsiWI en el extremo 3'. El producto de la reacción en cadena de la
20 polimerasa se clonó en TOPO para facilitar la digestión completa con HindIII y BsiWI en la siguiente reacción de clonación. Se verificó la secuencia de L298.TOPO, se digirió con HindIII/BsiWI, y se ligó en pConK2 cortado con HindIII/BsiWI. Se verificó la secuencia de L298.ConK2.

25

CREACIÓN DEL VECTOR DE DOBLE GEN.

[00196] El casete de expresión de cadena pesada se liberó como un fragmento NotI/PvuI, con una digestión de 24 horas de H1579.pConG1. El L298.pConK2 se digirió con AvII para impedir la re-formación de los clones progenitores, y se liberó el casete de la región variable L298 con digestión con PvuI y NotI. En seguida de la purificación en gel, los casetes de cadena pesada y ligera se ligaron en una proporción de 1:1 en una reacción de ligamiento durante la noche a 14°C. Las colonias se rastrearon para determinar la presencia de ambos insertos de cadena pesada y ligera mediante reacción en cadena de la polimerasa de células enteras, y los clones positivos se confirmaron mediante secuenciación. En la Figura 9 se ilustra un mapa del vector de doble gen. La secuencia del vector de doble gen se estipula en la Tabla 22:

Tabla 22
Secuencia de nucleótidos del vector de doble gen del anticuerpo monoclonal 1339

1	GCTTTCTCAT AGCTCAGCT GTAGGTATCT CAGTTCGGTG TAGGTCGTTC GCTCCAAGCT
61	GGGCTGTGTG CACGAACCCC CCGTTCAGCC CGACCGCTGC GCCTTATCCG GTAACATATCG
121	TCTTGAGTCC AACCCGGTAA GACACGACTT ATCGCCACTG GCAGCAGCCA CTGGTAACAG
181	GATTAGCAGA GCGAGGTATG TAGGCGGTGC TACAGAGTTC TTGAAGTGGT GGCCTAACTA
241	CGGCTACACT AGAAGAACAG TATTTGGTAT CTGCGCTCTG CTGAAGCCAG TTACCTTCGG
301	AAAAAGAGTT GGTAGCTCTT GATCCGGCAA ACAAACCACC GCTGGTAGCG GTGGTTTTTT
361	TGTTTGCAAG CAGCAGATTA CGCGCAGAAA AAAAGGATCT CAAGAAGATC CTTTGATCTT
421	TTCTACGGGG TCTGACGCTC AGTGAACGA AAACCTACGT TAAGGGATTT TGGTCATGAG

5

10

15

20

25

481	ATTATCAAAA	AGGATCTTCA	CCTAGATCCT	TTTAAATTAA	AAATGAAGTT	TTAAATCAAT
541	CTAAAGTATA	TATGAGTAAA	CTTGGTCTGA	CAGTTACCAA	TGCTTAATCA	GTGAGGCACC
601	TATCTCAGCG	ATCTGTCTAT	TTCGTTCATC	CATAGTTGCC	TGACTCCCCG	TCGTGTAGAT
661	AACTACGATA	CGGGAGGGCT	TACCATCTGG	CCCCAGTGCT	GCAATGATAC	CGCGAGACCC
721	ACGCTCACCG	GCTCCAGATT	TATCAGCAAT	AAACCAGCCA	GCCGGAAGGG	CCGAGCGCAG
781	AAGTGGTCCT	GCAACTTTAT	CCGCCTCCAT	CCAGTCTATT	AATTGTTGCC	GGGAAGCTAG
841	AGTAAGTAGT	TCGCCAGTTA	ATAGTTTGCG	CAACGTTGTT	GCCATTGCTA	CAGGCATCGT
901	GGTGTCACGC	TCGTGTTTTG	GTATGGCTTC	ATTCAGCTCC	GGTCCCCAAC	GATCAAGGCG
961	AGTTACATGA	TCCCCCATGT	TGTGCAAAAA	AGCGGTTAGC	TCCTTCGGTC	CTCCGATCGT
1021	TGTCAGAAAGT	AAGTTGGCCG	CAGTGTATC	ACTCATGGTT	ATGGCAGCAC	TGCATAATTC
1081	TCTTACTGTC	ATGCCATCCG	TAAGATGCTT	TTCTGTGACT	GGTGAGTACT	CAACCAAGTC
1141	ATTCTGAGAA	TAGTGTATGC	GGCGACCGAG	TTGCTCTTGC	CCGGCGTCAA	CACGGGATAA
1201	TACCGCGCCA	CATAGCAGAA	CTTTAAAAGT	GCTCATCATT	GGAAAACGTT	CTTCGGGGCG
1261	AAACTCTCA	AGGATCTTAC	CGCTGTTGAG	ATCCAGTTCG	ATGTAACCCA	CTCGTGCACC
1321	CAACTGATCT	TCAGCATCTT	TTACTTTCAC	CAGCGTTTCT	GGGTGAGCAA	AAACAGGAAG
1381	GCAAAATGCC	GCAAAAAGG	GAATAAGGGC	GACACGGAAA	TGTTGAATAC	TCATACTCTT
1441	CCTTTTTCAA	TATTATTGAA	GCATTATCA	GGGTTATTGT	CTCATGAGCG	GATACATATT
1501	TGAATGTATT	TAGAAAAATA	AACAAATAGG	GGTTCCGCGC	ACATTTCCCC	GAAAAGTGCC
1561	ACCTGACGTC	TAAGAAACCA	TTATTATCAT	GACATTAACC	TATAAAAATA	GGCGTATCAC
1621	GAGGCCCTGA	TGGCTCTTTG	CGGCACCCAT	CGTTCGTAAT	GTTCCGTGGC	ACCGAGGACA
1681	ACCCTCAAGA	GAAAATGTAA	TCACACTGGC	TCACCTTCGG	GTGGGCCTTT	CTGCGTTTAT
1741	AAGGAGACAC	TTTATGTTTA	AGAAGGTTGG	TAAATTCCTT	GCGGCTTTGG	CAGCCAAGCT
1801	AGATCCGGCT	GTGGAATGTG	TGTCAGTTAG	GGTGTGGA	GTCCCCAGGC	TCCCCAGCAG
1861	GCAGAAGTAT	GCAAAGCATG	CATCTCAATT	AGTCAGCAAC	CAGGTGTGGA	AAGTCCCCAG
1921	GCTCCCCAGC	AGGCAGAAGT	ATGCAAAGCA	TGCATCTCAA	TTAGTCAGCA	ACCATAGTCC
1981	CGCCCCTAAC	TCCGCCCATC	CCGCCCTAA	CTCCGCCAG	TTCCGCCCAT	TCTCCGCCCC
2041	ATGGCTGACT	AATTTTTTTT	ATTTATGCAG	AGGCCGAGGC	CGCCTCGGCC	TCTGAGCTAT
2101	TCCAGAAGTA	GTGAGGAGGC	TTTTTTGGAG	GCCTAGGCTT	TTGCAAAAAG	CTAGCTTGGG

5

10

15

20

25

2161	GCCACCGCTC	AGAGCACCTT	CCACCATGGC	CACCTCAGCA	AGTTCCCACT	TGAACAAAA
2221	CATCAAGCAA	ATGTACTTGT	GCCTGCCCCA	GGGTGAGAAA	GTCCAAGCCA	TGTATATCTG
2281	GGTTGATGGT	ACTGGAGAAG	GACTGCGCTG	CAAAACCCGC	ACCCTGGACT	GTGAGCCCAA
2341	GTGTGTAGAA	GAGTTACCTG	AGTGGAATTT	TGATGGCTCT	AGTACCTTTC	AGTCTGAGGG
2401	CTCCAACAGT	GACATGTATC	TCAGCCCTGT	TGCCATGTTT	CGGGACCCCT	TCCGCAGAGA
2461	TCCCAACAAG	CTGGTGTTCT	GTGAAGTTTT	CAAGTACAAC	CGGAAGCCTG	CAGAGACCAA
2521	TTTAAGGCAC	TCGTGTAAAC	GGATAATGGA	CATGGTGAGC	AACCAGCACC	CCTGGTTTGG
2581	AATGGAACAG	GAGTATACTC	TGATGGGAAC	AGATGGGCAC	CCTTTTGGTT	GGCCTTCCAA
2641	TGGCTTTCCT	GGGCCCCAAG	GTCCGTATTA	CTGTGGTGTG	GGCGCAGACA	AAGCCTATGG
2701	CAGGGATATC	GTGGAGGCTC	ACTACCGCGC	CTGCTTGTAT	GCTGGGGTCA	AGATTACAGG
2761	AACAAATGCT	GAGGTCATGC	CTGCCCAGTG	GGAACTCCAA	ATAGGACCCT	GTGAAGGAAT
2821	CCGCATGGGA	GATCATCTCT	GGGTGGCCCG	TTTCATCTTG	CATCGAGTAT	GTGAAGACTT
2881	TGGGGTAATA	GCAACCTTTG	ACCCCAAGCC	CATTCTGGG	AACTGGAATG	GTGCAGGCTG
2941	CCATACCAAC	TTTAGCACCA	AGGCCATGCG	GGAGGAGAAT	GGTCTGAAGC	ACATCGAGGA
3001	GGCCATCGAG	AAACTAAGCA	AGCGGCACCG	GTACCACATT	CGAGCCTACG	ATCCCAAGGG
3061	GGGCTTGAC	AATGCCCCTG	GTCTGACTGG	GTTCCACGAA	ACGTCCAACA	TCAACGACTT
3121	TTCTGCTGGT	GTCGCCAATC	GCAGTGCCAG	CATCCGCATT	CCCCGGA CTG	TCGGCCAGGA
3181	GAAGAAAGGT	TACTTTGAAG	ACCGCGGCCC	CTCTGCCAAT	TGTGACCCCT	TTGCAGTGAC
3241	AGAAGCCATC	GTCCGCACAT	GCCTTCTCAA	TGAGACTGGC	GACGAGCCCT	TCCAATACAA
3301	AAACTAATTA	GACTTTGAGT	GATCTTGAGC	CTTTCCTAGT	TCATCCCACC	CCGCCCCAGA
3361	GAGATCTTTG	TGAAGGAACC	TTACTTCTGT	GGTGTGACAT	AATTGGACAA	ACTACCTACA
3421	GAGATTTAAA	GCTCTAAGGT	AAATATAAAA	TTTTTAAGTG	TATAATGTGT	TAAACTACTG
3481	ATTCTAATTG	TTTGTGTATT	TTAGATTCCA	ACCTATGGAA	CTGATGAATG	GGAGCAGTGG
3541	TGGAATGCCT	TTAATGAGGA	AAACCTGTTT	TGCTCAGAAG	AAATGCCATC	TAGTGATGAT
3601	GAGGCTACTG	CTGACTCTCA	ACATTCTACT	CCTCCAAAAA	AGAAGAGAAA	GGTAGAAGAC
3661	CCCAAGGACT	TTCCTTCAGA	ATTGCTAAGT	TTTTTGAGTC	ATGCTGTGTT	TAGTAATAGA
3721	ACTCTTGCTT	GCTTTGCTAT	TTACACCACA	AAGGAAAAAG	CTGCACTGCT	ATACAAGAAA
3781	ATTATGGAAA	AATATTCTGT	AACCTTTATA	AGTAGGCATA	ACAGTTATAA	TCATAACATA

5

10

15

20

25

3841 CTGTTTTTTC TTACTCCACA CAGGCATAGA GTGTCTGCTA TTAATAACTA TGCTCAAAAA
 3901 TTGTGTACCT TTAGCTTTTT AATTTGTAAA GGGGTTAATA AGGAATATTT GATGTATAGT
 3961 GCCTTGACTA GAGATCATAA TCAGCCATAC CACATTTGTA GAGGTTTTAC TTGCTTTAAA
 4021 AAACCTCCCA CACCTCCCC TGAACCTGAA ACATAAAATG AATGCAATTG TTGTTGTAA
 4081 CTTGTTTATT GCAGCTTATA ATGGTTACAA ATAAAGCAAT AGCATCACAA ATTTACAAAA
 4141 TAAAGCATTT TTTTCACTGC ATTCTAGTTG TGGTTTGTCC AAATCATCA ATGTATCTTA
 4201 TCATGTCTGG ATCTCTAGCT TCGTGTCAAG GACGGTGAAT GCAGTGAATA ATAAATGTG
 4261 TGTTTGTCCG AAATACGCGT TTTGAGATTT CTGTCGCCGA CTAAATTCAT GTCGCGCGAT
 4321 AGTGGTGTTT ATCGCCGATA GAGATGGCGA TATTGGAAAA ATCGATATTT GAAAATATGG
 4381 CATATTGAAA ATGTCGCCGA TGTGAGTTTC TGTGTAAGT ATATCGCCAT TTTTCAAAAA
 4441 GTGATTTTTC GGCATACGCG ATATCTGGCG ATAGCGCTTA TATCGTTTAC GGGGATGGC
 4501 GATAGACGAC TTTGGTGAAT TGGGCGATTC TGTGTGTCGC AAATATCGCA GTTTCGATAT
 4561 AGGTGACAGA CGATATGAGG CTATATCGCC GATAGAGGCG ACATCAAGCT GGCACATGGC
 4621 CAATGCATAT CGATCTATAC ATTGAATCAA TATTGGCCAT TAGCCATATT ATTCATTGGT
 4681 TATATAGCAT AAATCAATAT TGGCTATTGG CCATTGCATA CGTTGTATCC ATATCATAAT
 4741 ATGTACATTT ATATTGGCTC ATGTCCAACA TTACCGCCAT GTTGACATTG ATTATTGACT
 4801 AGTTATTAAT AGTAATCAAT TACGGGGTCA TTAGTTCATA GCCCATATAT GGAGTTCCGC
 4861 GTTACATAAC TTACGGTAAA TGGCCCGCCT GGCTGACCGC CCAACGACCC CCGCCCATTC
 4921 ACGTCAATAA TGACGTATGT TCCCATAGTA ACGCCAATAG GGACTTTCCA TTGACGTCAA
 4981 TGGGTGGAGT ATTTACGGTA AACTGCCCAC TTGGCAGTAC ATCAAGTGTA TCATATGCCA
 5041 AGTACGCCCC CTATTGACGT CAATGACGGT AAATGGCCCG CCTGGCATTG TGCCCAGTAC
 5101 ATGACCTTAT GGGACTTTCC TACTTGGCAG TACATCTACG TATTAGTCAT CGCTATTACC
 5161 ATGGTGATGC GGTTTTGGCA GTACATCAAT GGGCGTGGAT AGCGGTTTGA CTCACGGGGA
 5221 TTTCCAAGTC TCCACCCCAT TGACGTCAAT GGGAGTTTGT TTTGGCACCA AAATCAACGG
 5281 GACTTTCCAA AATGTCGTAA CAACTCCGCC CCATTGACGC AAATGGGCGG TAGGCGTGTA
 5341 CGGTGGGAGG TCTATATAAG CAGAGCTCGT TTAGTGAACC GTCAGATCGC CTGGAGACGC
 5401 CATCCACGCT GTTTTGACCT CCATAGAAGA CACCGGGACC GATCCAGCCT CCGCGGCCGG
 5461 GAACGGTGCA TTGGAACGCG GATTCCCCGT GCCAAGAGTG ACGTAAGTAC CGCCTATAGA

5

10

15

20

25

5521 GTCTATAGGC CCACCCCCTT GGCTTCTTAT GCATGCTATA CTGTTTTTGG CTGGGGTCT
5581 ATACACCCCC GCTTCCTCAT GTTATAGGTG ATGGTATAGC TTAGCCTATA GGTGTGGGTT
5641 ATTGACCATT ATTGACCACT CCCCTATTGG TGACGATACT TTCCATTACT AATCCATAAC
5701 ATGGCTCTTT GCCACAACCTC TCTTTATTGG CTATATGCCA ATACACTGTC CTTCAGAGAC
5761 TGACACGGAC TCTGTATTTT TACAGGATGG GGTCTCATTT ATTATTTACA AATTACATA
5821 TACAACACCA CCGTCCCCAG TGCCCGCAGT TTTTATTAAA CATAACGTGG GATCTCACGC
5881 GAATCTCGGG TACGTGTTCC GGACATGGGC TCTTCTCCGG TAGCGGCGGA GCTTCTACAT
5941 CCGAGCCCTG CTCCCATGCC TCCAGCGACT CATGGTCGCT CGGCAGCTCC TTGCTCCTAA
6001 CAGTGAGGC CAGACTTAGG CACAGCACGA TGCCCAACCAC CACCAGTGTG CCGCACAAGG
6061 CCGTGCGGT AGGGTATGTG TCTGAAAATG AGCTCGGGGA GCGGGCTTGC ACCGCTGACG
6121 CATTTGGAAG ACTTAAGGCA GCGGCAGAAG AAGATGCAGG CAGCTGAGTT GTTGTGTTCT
6181 GATAAGAGTC AGAGGTAACCT CCCGTTGCGG TGCTGTTAAC GGTGGAGGGC AGTGAGTCT
6241 GAGCAGTACT CGTTGCTGCC GCGCGCGCCA CCAGACATAA TAGCTGACAG ACTAACAGAC
6301 TGTTCTTTC CATGGGTCTT TTCTGCAGTC ACCGTCCTTG ACACGAAGCT TAAGCCGCCA
6361 CCATGGGATG GAGCTGTATC ATCCTCTTCT TGGTAGCAAC AGCTACAGGC GTGCACTCCG
6421 ACATCCAGAT GACCCAGTCT CCGTCTCCC TGTCTGCTTT TGTGGGAGAC GGAGTCACCA
6481 TGACTTGTTG GGCAAGTCAG AGTATCAACG ACTATTTAAA TTGGTATCAC CAGAGGCCAG
6541 GGGAGGCCCC TGAGCTCCTG GTCTTTGCTG CCTCCAATTT GCAAATTGGA GTCCCGTCAA
6601 GGTTCAAGGG CAGTGATCT GAGACGTATT TCACTTTAAC TATCAACAGT CTGCAACCTG
6661 AAGATAGTGG CACATACTTC TGTCAGAATG CTCACTCTTT CCCGCTTACT TTCGGCGGAG
6721 GGACCAAGCT CGAGATCAAA CGTACGGTGG CTGCACCATC TGTCTTCATC TTCCCGCCAT
6781 CTGATGAGCA GTTGAAATCT GGAAGTGCCT CTGTTGTGTG CTGCTGAAT AACTTCTATC
6841 CCAGAGAGGC CAAAGTACAG TGGAAGGTGG ATAACGCCCT CCAATCGGGT AACTCCCAGG
6901 AGAGTGTCAC AGAGCAGGAC AGCAAGGACA GCACCTACAG CCTCAGCAGC ACCCTGACGC
6961 TGAGCAAAGC AGACTACGAG AAACACAAAG TCTACGCCTG CGAAGTCACC CATCAGGGCC
7021 TGAGCTCGCC CGTCACAAAG AGCTTCAACA GGGGAGAGTG TTAGGAATTC ATTGATCATA
7081 ATCAGCCATA CCACATTTGT AGAGGTTTAA CTTGCTTTAA AAAACCTCCC ACACCTCCCC
7141 CTGAACCTGA AACATAAAAT GAATGCAATT GTTGTGTTA ACTTGTTTAT TGCAGCTTAT

5

10

15

20

25

7201 AATGGTTACA AATAAAGCAA TAGCATCACA AATTTACAAA ATAAAGCATT TTTTTCCTG
7261 CATTCTAGTT GTGGTTTGTC CAAACTCATC AATGTATCTT ATCATGTCTG GCGGCCGCCG
7321 ATATTTGAAA ATATGGCATA TTGAAAATGT CGCCGATGTG AGTTTCTGTG TAACTGATAT
7381 CGCCATTTTT CCAAAAGTGA TTTTGGGCA TACGCGATAT CTGGCGATAG CGCTTATATC
7441 GTTTACGGGG GATGGCGATA GACGACTTTG GTGACTTGGG CGATTCTGTG TGTCGCAAAT
7501 ATCGCAGTTT CGATATAGGT GACAGACGAT ATGAGGCTAT ATCGCCGATA GAGGCGACAT
7561 CAAGCTGGCA CATGGCCAAT GCATATCGAT CTATACATTG AATCAATATT GGCCATTAGC
7621 CATATTATTC ATTGGTTATA TAGCATAAAT CAATATTGGC TATTGGCCAT TGCATACGTT
7681 GTATCCATAT CATAATATGT ACATTTATAT TGGCTCATGT CCAACATTAC CGCCATGTTG
7741 ACATTGATTA TTGACTAGTT ATTAATAGTA ATCAATTACG GGGTCATTAG TTCATAGCCC
7801 ATATATGGAG TTCCGCGTTA CATAACTTAC GGTAAATGGC CCGCCTGGCT GACCGCCCAA
7861 CGACCCCCGC CCATTGACGT CAATAATGAC GTATGTTCCC ATAGTAACGC CAATAGGGAC
7921 TTTCCATTGA CGTCAATGGG TGGAGTATTT ACGGTAAACT GCCCACTTGG CAGTACATCA
7981 AGTGTATCAT ATGCCAAGTA CGCCCCCTAT TGACGTCAAT GACGGTAAAT GGCCCGCCTG
8041 GCATTATGCC CAGTACATGA CCTTATGGGA CTTTCCTACT TGGCAGTACA TCTACGTATT
8101 AGTCATCGCT ATTACCATGG TGATGCGGTT TTGGCAGTAC ATCAATGGGC GTGGATAGCG
8161 GTTTGACTCA CGGGGATTTT CAAGTCTCCA CCCCATTGAC GTCAATGGGA GTTTGTTTTG
8221 GCACCAAAAT CAACGGGACT TTCCAAAATG TCGTAACAAC TCCGCCCCAT TGACGCAAAT
8281 GGGCGGTAGG CGTGTACGGT GGGAGGTCTA TATAAGCAGA GCTCGTTTAG TGAACCGTCA
8341 GATCGCCTGG AGACGCCATC CACGCTGTTT TGACCTCCAT AGAAGACACC GGGACCGATC
8401 CAGCCTCCGC GGCCGGGAAC GGTGCATTGG AACGCGGATT CCCCCTGCCA AGAGTGACGT
8461 AAGTACCGCC TATAGAGTCT ATAGGCCAC CCCCTTGGCT TCTTATGCAT GCTATACTGT
8521 TTTTGGCTTG GGGTCTATAC ACCCCGCTT CCTCATGTTA TAGGTGATGG TATAGCTTAG
8581 CCTATAGGTG TGGGTTATTG ACCATTATTG ACCACTCCCC TATTGGTGAC GATACTTTCC
8641 ATTACTAATC CATAACATGG CTCTTTGCCA CAACTCTCTT TATTGGCTAT ATGCCAATAC
8701 ACTGTCCTTC AGAGACTGAC ACGGACTCTG TATTTTTACA GGATGGGGTC TCATTTATTA
8761 TTTACAAATT CACATATACA ACACCACCGT CCCAGTGCC CGCAGTTTTT ATTAAACATA
8821 ACGTGGGATC TCCACGCGAA TCTCGGGTAC GTGTTCCGGA CATGGGCTCT TCTCCGGTAG

5

10

15

20

25

8881 CGGCGGAGCT TCTACATCCG AGCCCTGCTC CCATGCCTCC AGCGACTCAT GGTGCTCGG
8941 CAGCTCCTTG CTCCTAACAG TGGAGGCCAG ACTTAGGCAC AGCACGATGC CCACCACCAC
9001 CAGTGTGCCG CACAAGGCCG TGGCGGTAGG GTATGTGTCT GAAAATGAGC TCGGGGAGCG
9061 GGCTTGCACT GCTGACGCAT TTGGAAGACT TAAGGCAGCG GCAGAAGAAG ATGCAGGCAG
9121 CTGAGTTGTT GTGTTCTGAT AAGAGTCAGA GGTAACCTCC GTTGCGGTGC TGTAAACGGT
9181 GGAGGGCAGT GTAGTCTGAG CAGTACTCGT TGCTGCCGCG CGCGCCACCA GACATAATAG
9241 CTGACAGACT AACAGACTGT TCCTTTCCAT GGGTCTTTTC TGCAGTCACC GTCCTTGACA
9301 CGAAGCTTAA GCCGCCACCA TGGGATGGAG CTGTATCATC CTCTTCTTGG TAGCAACAGC
9361 TACAGGCGCG CACTCCCAAG TCACTTTGAA GGAGTCTGGT CCTACGCTGG TGAAACCCAC
9421 ACAGACCCTC ACGCTGACCT GCAGCTTCTC TGGGTTCTCA CTCAGACTA GTGGAGTGGG
9481 TGTGGGCTGG GTCCGTCAGC CCCCAGGAAA GGCCCTGGAG TGGCTTGCAT TCATTTGGTG
9541 GGATGATGAT AAGTACTACA GCCCGTCTCT GGAGAGCAGG CTCACCATCA CCAAGGACAC
9601 CTCCAAAAAC CAGGTGGTCC TTACAATGAC CAACATGGAC CCTGTGGACA CAGCCACATA
9661 TTAAGTGCA CGATCCGCTG ATGACTATCT TTAATATTCT TTTGACACGT GGGGCCAGGG
9721 AACCCTGGTC ACCGTCTCCT CAGCCTCCAC CAAGGGCCCA TCGGTCTTCC CCCTGGCACC
9781 CTCCTCCAAG AGCACCTCTG GGGGCACAGC GGCCCTGGGC TGCCTGGTCA AGGACTACTT
9841 CCCCGAACCG GTGACGGTGT CGTGGAATC AGGCGCCCTG ACCAGCGGCG TGCACACCTT
9901 CCCGGCTGTC CTACAGTCCT CAGGACTCTA CTCCCTCAGC AGCGTGGTGA CCGTGCCCTC
9961 CAGCAGCTTG GGCACCCAGA CCTACATCTG CAACGTGAAT CACAAGCCCA GCAACACCAA
10021 GGTGGACAAG AGAGTTGGTG AGAGGCCAGC ACAGGGAGGG AGGGTGTCTG CTGGAAGCCA
10081 GGCTCAGCGC TCCTGCCTGG ACGCATCCCG GCTATGCAGT CCCAGTCCAG GGCAGCAAGG
10141 CAGGCCCCGT CTGCCTCTTC ACCCGGAGGC CTCTGCCCCG CCCACTCATG CTCAGGGAGA
10201 GGGTCTTCTG GCTTTTTTCCC CAGGCTCTGG GCAGGCACAG GCTAGGTGCC CCTAACCCAG
10261 GCCCTGCACA CAAAGGGGCA GGTGCTGGGC TCAGACCTGC CAAGAGCCAT ATCCGGGAGG
10321 ACCCTGCCCC TGACCTAAGC CCACCCAAA GGCCAAACTC TCCACTCCCT CAGCTCGGAC
10381 ACCTTCTCTC CTCCAGATT CCAGTAACTC CCAATCTTCT CTCTGCAGAG CCCAAATCTT
10441 GTGACAAAAC TCACACATGC CCACCGTGCC CAGGTAAGCC AGCCAGGCC TCGCCCTCCA
10501 GCTCAAGGCG GGACAGGTGC CCTAGAGTAG CCTGCATCCA GGGACAGGCC CCAGCCGGGT

5

10

15

20

10561 GCTGACACGT CCACCTCCAT CTCTTCCTCA GCACCTGAAC TCCTGGGGGG ACCGTCAGTC
10621 TTCCTCTTCC CCCCCAAACC CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACA
10681 TGCCTGGTGG TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCTGAGGTCA AGTTCAACTG GTACGTGGAC
10741 GGCGTGGAGG TGCATAATGC CAAGACAAAG CCGCGGGAGG AGCAGTACAA CAGCACGTAC
10801 CGTGTGGTCA GCGTCCTCAC CGTCCTGCAC CAGGACTGGC TGAATGGCAA GGAGTACAAG
10861 TGCAAGGTCT CCAACAAAGC CCTCCCAGCC CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAGCCAAA
10921 GGTGGGACCC GTGGGGTGCG AGGGCCACAT GGACAGAGGC CGGCTCGGCC CACCCTCTGC
10981 CCTGAGAGTG ACCGCTGTAC CAACCTCTGT CCCTACAGGG CAGCCCCGAG AACCACAGGT
11041 GTACACCCTG CCCCCATCCC GGGAGGAGAT GACCAAGAAC CAGGTCAGCC TGACCTGCCT
11101 GGTCAAAGGC TTCTATCCCA GCGACATCGC CGTGGAGTGG GAGAGCAATG GGCAGCCGGA
11161 GAACAACTAC AAGACCACGC CTCCCGTGCT GGACTCCGAC GGCTCCTTCT TCCTCTATAG
11221 CAAGCTCACC GTGGACAAGA GCAGGTGGCA GCAGGGGAAC GTCTTCTCAT GCTCCGTGAT
11281 GCATGAGGCT CTGCACAACC ACTACACGCA GAAGAGCCTC TCCCTGTCTC CGGGTAAATA
11341 GGAATTCATT GATCATAATC AGCCATACCA CATTTGTAGA GGTTTTACTT GCTTTAAAAA
11401 ACCTCCCACA CCTCCCCCTG AACCTGAAAC ATAAAATGAA TGCAATTGTT GTTGTTAACT
11461 TGTTTATTGC AGCTTATAAT GGTTACAAAT AAAGCAATAG CATCACAAAT TTCACAAATA
11521 AAGCATTTTT TTCACTGCAT TCTAGTTGTG GTTTGTCCAA ACTCATCAAT GTATCTTATC
11581 ATGTCTGGAT CCTCTACGCC GGACGCATCG TGGCCGGCAT CACCGGCGCC ACAGGTGCGG
11641 TTGCTGGCGC CTATATCGCC GACATCACCG ATGGGGAAGA TCGGGCTCGC CACTTCGGGC
11701 TCATGAGCGC TTGTTTCGGC GTGGGTATGG TGGCAGGCCC CGTGGCCGGG GGAAGTGTGG
11761 GCGCCATCTC CTTGCATGCA CCATTCCTTG CGGCGGCGGT GCTCAACGGC CTCAACCTAC
11821 TACTGGGCTG CTTCCTAATG CAGGAGTCGC ATAAGGGAGA GCGTCGACCT CGGGCCGCGT
11881 TGCTGGCGTT TTTCCATAGG CTCCGCCCCC CTGACGAGCA TCACAAAAAT CGACGCTCAA
11941 GTCAGAGGTG GCGAAACCCG ACAGGACTAT AAAGATACCA GGC GTTCCC CCTGGAAGCT
12001 CCCTCGTGCG CTCTCCTGTT CCGACCCTGC CGCTTACCGG ATACCTGTCC GCCTTTCTCC
12061 CTTCCGGAAG CGTGGC (SEQ ID NO:50)

25

Ejemplo 4**CREACIÓN DE UNA LÍNEA CELULAR DE CHO QUE EXPRESA EL
ANTICUERPO MONOCLONAL 1339**

[00197] La CHO-K1 HD, una línea celular que se adaptó para
5 crecer en un cultivo en suspensión de alta densidad, se transfectó
con el vector de doble gen del anticuerpo monoclonal 1339 (como se
describe en el Ejemplo 3 anterior). Las células CHO-K1 HD se
llevaron en suspensión hasta el momento de la transfección. El día
anterior a la transfección, las líneas en suspensión se sembraron en
10 placas de seis pozos en la presencia de suero para permitir la unión
de las células.

[00198] Se llevaron a cabo cuatro transfecciones separadas,
cada una separada por 7 días, utilizando las siguientes pasadas de
células CHO-K1 HD, y se purificaron frescas y se digirió el ADN a
15 partir de las preparaciones de ADN del plásmido separadas. Cada
semana, las células se sembraron en dos placas de seis pozos, una
placa para una proporción de 2.5:1 de ADN:lipofectamina, y la otra
para una proporción de 3.0:1. Por consiguiente, se transfectó un total
de 48 reservas durante el transcurso de cuatro semanas. Cada
20 reserva fue seguida para determinar los niveles de crecimiento y
producción de anticuerpo; no todas las reservas sobrevivieron a la
selección de fármacos. Las reservas se denotan mediante la
siguiente nomenclatura: nombre de anticuerpo monoclonal/número de
transfección, proporción de ADN:lipofectamina, letra del pozo
25 transfectado, y número de plato. (Ejemplo: mAb 1339/1 2.5 B2 -

reserva).

[00199] La productividad se midió utilizando el ensayo de secreción de 3 días. Los datos se presentan en titulación de anticuerpo monoclonal (microgramo/mililitro) y productividad específica (microgramos/millón de células/día). La titulación y la especificidad del anticuerpo se determinaron mediante ELISA. Los resultados de los ensayos de secreción de todas las reservas 1339 probadas se estipulan en la Tabla 23.

10

Tabla 23

Productividad de las células CHO transfectadas

15

20

25

Reserva de IL-6 mAb	mAb conc. (en $\mu\text{g/ml}$)	SPR ($\mu\text{g/células E6/día}$)	$\mu\text{g/células E6}$	No. final de células ($\times 10^6$)
TRANSECCIÓN 1				
mAb 1339/1 2.5 A1 - reserva (2E+05)	6.34	3.019	9.057	1.400
mAb 1339/1 2.5 A1 - reserva (2E+05)	7.15	2.020	6.059	2.360
mAb 1339/1 2.5 A1 (5E+05)	10.10	3.367	10.100	2.000
mAb 1339/1 2.5 A1 (1E+06)	17.68	3.274	9.822	3.600

	Reserva de IL-6 mAb	mAb conc. (en $\mu\text{g/ml}$)	SPR ($\mu\text{g/células}$ E6/día)	$\mu\text{g/células}$ E6	No. final de células (x 10 ⁶)
5	mAb 1339/1 2.5 A1 #D2	1.60	3.048	9.143	0.350
	mAb 1339/1 2.5 A2 - reserva	0.40	0.437	1.311	0.610
	mAb 1339/1 2.5 B1 - reserva	0.78	0.765	2.294	0.680
10	mAb 1339/1 2.5 B2 - reserva	10.18	18.244	54.731	0.372
	mAb 1339/1 2.5 B2 (2E+05)	28.81	27.166	81.499	0.707
	mAb 1339/1 2.5 B2 (2E+05)	23.95	20.790	62.370	0.768
	mAb 1339/1 2.5 B2 (2E+05)	10.58	21.374	64.121	0.330
15	mAb 1339/1 2.5 B2 (5E+05)	54.21	24.255	72.765	1.490
	mAb 1339/1 2.5 B2 (5E+05)	37.23	20.683	62.050	1.200
	mAb 1339/1 2.5 B2 (1E+06)	77.50	24.603	73.810	2.100
20	mAb 1339/1 2.5 C1 - reserva	4.29	9.226	27.677	0.310
	mAb 1339/1 2.5 C2 - reserva	0.26	0.231	0.692	0.737
	mAb 1339/1 2.5 C2 #D1	0.00	0.000	0.000	1.180
25	mAb 1339/1 2.5 C2 #D2	0.48	0.281	0.842	1.140

5

10

15

20

25

Reserva de IL-6 mAb	mAb conc. (en $\mu\text{g/ml}$)	SPR ($\mu\text{g/células}$ E6/día)	$\mu\text{g/células}$ E6	No. final de células (x 10 ⁶)
TRANSFECCIÓN 2				
mAb 1339/2 2.5 C1 - reserva	5.89	3.812	11.437	1.030
mAb b 1339/2 pool 2.5 C2	2.95	0.624	1.873	3.150
TRANSFECCIÓN 3				
mAb 1339/3 2.5 A1 - reserva	0	0.000	0.000	1.160
mAb 1339/3 2.5 A2 - reserva	0.56	0.213	0.640	1.750
mAb 1339/3 2.5 B1 - reserva	0	0.000	0.000	1.340
mAb 1339/3 2.5 B2 - reserva	0.35	0.175	0.526	1.330
mAb 1339/3 2.5 C1 - reserva	0	0.000	0.000	2.040
mAb 1339/3 2.5 C2 - reserva	0.71	0.601	1.802	0.788
mAb 1339/3 3.0 A1 - reserva	0.80	0.368	1.103	1.450
mAb 1339/3 3.0 A2 - reserva	0	0.000	0.000	0.110
mAb 1339/3 3.0 A2 - reserva	0	0.000	0.000	0.220
mAb 1339/3 3.0 B1 - reserva	0	0.000	0.000	2.730

5

Reserva de IL-6 mAb	mAb conc. (en μg/ml)	SPR (μg/células E6/día)	μg/células E6	No. final de células (x 10 ⁶)
mAb 1339/3 3.0 B2 - reserva	0.89	0.436	1.309	1.360
mAb 1339/3 3.0 C2 - reserva	0	0.000	0.000	1.130

10

[00200] Los rendimientos de anticuerpo monoclonal a partir de los experimentos de secreción a pequeña escala se ilustran en la Fig.10.

Ejemplo 5

ESPECIFICIDAD Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL ANTICUERPO

ESPECIFICIDAD DEL ANTICUERPO

15

[00201] El anticuerpo monoclonal 1339 purificado se probó para confirmar su especificidad para IL-6. El anticuerpo monoclonal purificado 1339 se probó mediante ELISA, para determinar su enlace con un panel de antígenos de control, incluyendo insulina humana, albúmina de suero humano, hemoglobina humana, y albúmina de suero bovino. No se vio ningún enlace específico con estos antígenos. (No se muestran los datos).

20

25

[00202] En adición, se probaron el anticuerpo monoclonal 1339 purificado y el anticuerpo monoclonal 88 de control mediante ELISA, para determinar su enlace con un panel de miembros de la súper-familia de IL-6: CNFT, oncostatina M, IL-11, y NNT-1. Como se

muestra en las Figuras 5A y 5B, ni el anticuerpo monoclonal 1339 no el anticuerpo monoclonal 88 se enlazaron con ninguna de estas citoquinas en el ELISA.

5 **INHIBICIÓN DE LA PROLIFERACIÓN CELULAR DE MURINO Y HUMANA INDUCIDA POR IL-6.**

[00203] Con el objeto de evaluar la actividad biológica de los anticuerpos monoclonales anti-IL-6, se evaluó su capacidad para inhibir la proliferación de células de mieloma de murino B9 inducida por IL-6 (Figura 12), y la proliferación de células humanas U266
10 inducida por IL-6 (Figura 13). La línea celular de murino B9 es sensible a la IL-6 humana.

[00204] Como se muestra en la Figura 12, los anticuerpos monoclonales 926, 1259, 1337, 1338, 1339 y 1340, mostraron todos un efecto inhibidor dependiente de la dosis sobre la proliferación de
15 células de mieloma de murino inducida por IL-6. Por ejemplo, en concentraciones del anticuerpo monoclonal de 100 nanogramos/mililitro, el nivel de inhibición observado con los anticuerpos monoclonales 926, 1337, 1338, y 1339 está muy cercano al nivel de inhibición observado con el anticuerpo monoclonal B-E8
20 de murino.

[00205] Como se muestra en la Figura 13, los anticuerpos monoclonales 416, 926, y 1339 mostraron un efecto inhibidor dependiente de la dosis sobre la proliferación de células de mieloma humano inducida por IL-6.
25

INHIBICIÓN DE LA INTERACCIÓN ENTRE IL-6 E IL-6R.

[00206] Para evaluar adicionalmente la actividad biológica de los anticuerpos monoclonales anti-IL-6 humanos, se evaluó su capacidad para inhibir la interacción entre IL-6 y el receptor de IL-6, utilizando citometría de flujo.

[00207] La citometría de flujo se llevó a cabo empleando métodos convencionales. Primero, se llevó a cabo el bloqueo con el receptor de Fc sobre las células U266. U266 es una línea de plasmacitoma humano que produce IgG e IL-6. Las células U266 se cosecharon y se centrifugaron. Las células se contaron y se lavaron dos veces en regulador de flujo (FB), y se ajustaron hasta aproximadamente el 120 por ciento del número final de células necesario para el ensayo, calculando 150,000 células por pozo, de una placa de 96 pozos. Las células se volvieron a suspender en regulador de flujo a 5×10^6 células/mililitro, y se ajustaron a 0.1 miligramos de hulgG/mililitro. Las células se mezclaron y se incubaron sobre hielo durante 20 a 30 minutos. En seguida, se agregaron 15 volúmenes de regulador de flujo, y las células se centrifugaron. El sobrenadante se desechó, y las células se lavaron dos veces más con 20 mililitros de regulador de flujo. Luego las células se volvieron a suspender a una densidad de 1.5×10^6 células/mililitro, y se agregaron 100 microlitros por pozo a la placa de pre-incubación. En seguida, se co-incubaron la IL-6 humana recombinante y los anticuerpos monoclonales anti-IL-6 humana. Primero se prepararon todas las diluciones necesarias de

anticuerpos monoclonales e IL-6 en regulador de flujo. En seguida, se pre-incubaron 50 microlitros de anticuerpo monoclonal con 50 microlitros de IL-6 (de preferencia a 1 nM final) durante 30 minutos sobre hielo, después de mezclar la placa en un vórtex de placas durante 30 segundos a potencia media. Se incluyeron pozos de control para cada anticuerpo monoclonal ya sea sin IL-6, o bien con IL-6 en ausencia de anticuerpo. En seguida, las células U266 se co-incubaron con IL-6 y los anticuerpos monoclonales anti-IL-6. Las células bloqueadas y lavadas se agregaron en 100 microlitros de regulador de flujo a la mezcla de IL-6/mAb anterior. El volumen de incubación final fue de 200 microlitros. Las células se incubaron durante 30 minutos sobre hielo. Los pasos de lavado entre las incubaciones se llevaron a cabo como sigue: Inicialmente, la placa de incubación se centrifugó a 250 xg durante 4 minutos en un centrífugo establecido a 4°C. Las placas se deslizaron y se limpiaron cuidadosamente sin deslocalizar los gránulos. En seguida, las células se volvieron a suspender mediante vórtex de la placa durante 10 segundos a la potencia más alta. Se agregaron 220 microlitros de regulador de flujo, y nuevamente la placa se centrifugó. Este paso de lavado se repitió una vez más, y los gránulos celulares pasados por el vórtex finalmente se volvieron a suspender en 100 microlitros de la dilución de anticuerpo respectiva. Luego las células se incubaron con el anticuerpo B-F6 de ratón anti-IL-6. Se agregaron 100 microlitros del anticuerpo [5 microgramos/mililitro en regulador de flujo] directamente a los gránulos celulares lavados anteriores, los cuales

se aflojaron mediante vórtex breve, y entonces se pusieron cuidadosamente de nuevo en vórtex a potencia media durante 15 minutos. Las células se incubaron durante 30 minutos sobre hielo, y se lavaron. En seguida, las células se incubaron con IgG1 de cabra anti-ratón acoplada con APC. Los gránulos celulares aflojados y lavados se volvieron a suspender en 100 microlitros del anticuerpo marcado [2.5 microgramos de aloficocianina/mililitro]. Las células se mantuvieron en la oscuridad, y se pusieron en vórtex y se incubaron sobre hielo durante 30 minutos. Las células se lavaron y se volvieron a suspender en 200 a 400 microlitros de regulador de flujo. Entonces se condujo el análisis mediante citometría de flujo. Primero, se agregó yoduro de propidio (PI) utilizando una dilución de 150 veces del suministro de yoduro de propidio. Se estableció una compuerta viva basada en la exclusión de yoduro de propidio, viendo F1-3 contra FSC. Se agregó yoduro de propidio solamente para la siguientes muestras de células con el fin de evitar una incubación extendida de las células con yoduro de propidio.

[00208] Como se muestra en las Figuras 6A y 6B, los anticuerpos monoclonales 926, 1259, 1337, 1338, 1339 y 1340, mostraron todos un efecto inhibitor sobre el enlace de la IL-6 con el receptor de IL-6 en las células U266 bajo concentraciones crecientes de IL-6, manteniéndose la concentración de anticuerpo constante a 0.5 microgramos/mililitro. Se observó un nivel de inhibición notoriamente alto con el anticuerpo monoclonal 1339. De una manera similar, las Figuras 7A y 7B muestran un efecto inhibitor de los

anticuerpos monoclonales 242, 416, 926, y 1339 sobre el enlace de IL-6 con el receptor de IL-6 en las células U266, bajo concentraciones crecientes de anticuerpo monoclonal, manteniéndose la concentración de IL-6 constante a 500 nanogramos/mililitro.

[00209] También se demostró el efecto inhibitor de los anticuerpos monoclonales cuando se utilizó IL-6 biotinilada (no se muestran los datos).

[00210] Estos resultados muestran que los anticuerpos monoclonales, 242, 416, 926, 1259, 1337, 1338, 1339 y 1340 son capaces de inhibir la interacción entre la IL-6 y su receptor, y por consiguiente, confirman la actividad biológica de estos anticuerpos monoclonales.

[00211] Finalmente, se llevó a cabo un ensayo de competencia, como se describe en el Ejemplo 2 para la Figura 4, utilizando los anticuerpos monoclonales 416, 926, 1259, 1337, 1338, 1339 y 1340, junto con el anticuerpo monoclonal 88 de control. Como se muestra en la Figura 8, todos los anticuerpos monoclonales probados exhibieron un efecto inhibitor dependiente de la dosis sobre el enlace de la IL-6 humana recombinante con el receptor de IL-6.

Ejemplo 6

ESPECIFICIDAD DE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES 926 Y

1339

[00212] Se determinó la reactividad cruzada con IL-6 de

murino y de rata para los anticuerpos monoclonales 926 y 1339 mediante ELISA, como se describe anteriormente. Los pozos se recubrieron con 100 nanogramos/mililitro de IL-6 de murino o de rata (R&D Systems) a 100 microlitros/pozo. Para los experimentos que

5 utilizaron anticuerpos monoclonales humanos, se utilizó el anticuerpo monoclonal IgG1 kappa (IgG1 de mieloma humano; Sigma-Aldrich Co.) como un control. Se agregó IgG-HRP de conejo anti-humano (Dakco) a una dilución de 1/10,000, a 100 microlitros/pozo, para la detección de los anticuerpos monoclonales. Los controles de

10 anticuerpo policlonal (pAb) incluyeron IL-6 de cabra anti-humano biotinilada (Peprotech), IL-6 de cabra anti-murino biotinilada (Peprotech), e IL-2 de cabra anti-humano biotinilada (Peprotech). Para los anticuerpos policlonales, se agregó estreptavidina-HRP (Prozima) para la detección a 100 microlitros/pozo. Los anticuerpos

15 se aplicaron en concentraciones de 12.5, 25, 50, y 100 nanogramos/mililitro. Como se muestra en las Figuras 14 y 15, respectivamente, los anticuerpos monoclonales 926 y 1339 no detectan la IL-6 de murino o de rata recombinante recubierta, mediante ELISA.

20

Ejemplo 7

DETECCIÓN DE IL-6 NATURAL HUMANA Y DE MONO

[00213] Se analizó la capacidad de los anticuerpos monoclonales 926 y 1339 para detectar la IL-6 humana natural, en monocitos humanos activados. Los monocitos de células

25 mononucleares de sangre periférica se activaron durante 24 horas

con lipopolisacárido (LPS; 20 microgramos/mililitro; Sigma-Aldrich Co.), con el objeto de inducir la presión intracitoplásmica de IL-6 (no se muestran los datos. Las células se trataron con 1 microgramo/mililitro de Brefeldina A (Sigma-Aldrich Co.) 6 horas
5 antes del final del tratamiento con lipopolisacárido, para inhibir el transporte de IL-6 hacia el sobrenadante. Las células activadas se analizaron mediante citometría de flujo como se describió anteriormente, con 0.8 microgramos/mililitro de los anticuerpos monoclonales biotinilados 88, 1339, 926, B-E8 (anti-IL-6 de murino;
10 Diaclone), B-Z1 (IgG1 de ratón; Diaclone), e IgG1 kappa humana (Sigma-Aldrich Co.). Se llevaron a cabo tres experimentos independientes para cada anticuerpo. Los experimentos representativos se muestran en la Figura 16, la cual muestra que los anticuerpos monoclonales 926 y 1339 reconocen la IL-6
15 intracitoplásmica natural.

[00214] Adicionalmente, se determinó mediante ELISA la capacidad de los anticuerpos monoclonales 926 y 1339 para determinar la IL-6 humana natural a partir de suero humano, utilizando el kit de ELISA de IL-6 humana de Alta Sensibilidad
20 Diaclone, de acuerdo con los protocolos del fabricante. Utilizando éste último kit, se determinó la detección de IL-6 humana mediante la competencia del anticuerpo monoclonal (5 microgramos/mililitro) con el anticuerpo IL-6 recubierto sobre los pozos de la placa ELISA. La adición de suero conteniendo IL-6 (Suero AB, lote 5; Blood
25 Center, Besançon, Francia) en ausencia de un anticuerpo

competidor, da como resultado la detección de la IL-6 mediante el kit ELISA. La adición de suero conteniendo IL-6 en la presencia de un anticuerpo competidor, da como resultado una reducción en la capacidad del kit ELISA para detectar la IL-6 en el suero. Los anticuerpos de control incluyeron B-E8 (anti-IL-6 de murino; Diaclone), B-Z1 (IgG1 de ratón; Diaclone), e IgG1 kappa humana (Sigma-Aldrich Co.). Como se muestra en la Figura 17, los anticuerpos monoclonales 926 y 1339 detectan la IL-6 natural a partir de suero donador sano.

10 [00215] Se determinó mediante ELISA la capacidad del anticuerpo monoclonal 1339 para detectar la IL-6 de mono natural, a partir del suero de mono Rhesus (BPRC, Holanda), utilizando el kit ELISA de IL-6 de mono U-Cytech (U-Cytech Biosciences), de acuerdo con los protocolos del fabricante. Utilizando éste último kit, se determinó la detección de IL-6 de mono mediante competencia del anticuerpo monoclonal (5 microgramos/mililitro) con el anticuerpo IL-6 recubierto sobre los pozos de la placa ELISA. La adición de suero conteniendo IL-6 en ausencia de un anticuerpo competidor, da como resultado la detección de IL-6 mediante el kit ELISA. La adición de suero conteniendo IL-6 en la presencia de un anticuerpo competidor, da como resultado una reducción en la capacidad del kit ELISA para detectar la IL-6 en el suero. La IgG1 kappa de mono sirvió como un anticuerpo de control. Como se muestra en la Figura 18, el anticuerpo monoclonal 1339 detecta la IL-6 natural a partir de suero de mono.

[00216] Habiendo ahora descrito completamente la presente invención con algún detalle a manera de ilustración y ejemplo, para propósitos de claridad de entendimiento, será obvio para un experto ordinario en la materia que la misma se puede llevar a cabo
5 modificando o cambiando la invención dentro de un rango amplio y equivalente de condiciones, formulaciones, y otros parámetros, sin afectar el alcance de la invención o de cualquier realización específica de la misma, y que se pretende que estas modificaciones o cambios sean abarcados dentro del alcance de las reivindicaciones
10 adjuntas.

[00217] Todas las publicaciones, patentes, y solicitudes de patente mencionadas en esta memoria descriptiva indican el nivel de habilidad de los expertos en la materia a la que pertenece esta invención, y se incorporan a la presente como referencia hasta el
15 mismo grado como si cada publicación, patente, o solicitud de patente individual fuera indicada de una manera específica e individual como incorporada por referencia.

20

25

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo monoclonal aislado, el cual comprende:

5 (a) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende:

(i) una VH-CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a
10 cualquiera de las SEQ ID NOs: 51 a 55 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

(ii) una VH-CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ
15 ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:97, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 56 a 61 ó 97 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

(iii) una VH-CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ
20 ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:98, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 62 a 73 ó 98 excepto por 1 a 5 sustituciones de
25 aminoácidos; y

(b) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende:

(i) una VL-CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las:
5 SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO: 79, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 74 a 79 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

(ii) una VL-CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las:
10 SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:85, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 80 a 85 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

(iii) una VL-CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las:
15 SEQ ID NO:86, SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:91, SEQ ID NO:92, SEQ ID NO:93, SEQ ID NO:94, SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 86 a 96 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

en donde este anticuerpo se enlaza específicamente a un antígeno de IL-6.

2. Un anticuerpo monoclonal humano aislado, el cual
25 comprende una CDR1 de cadena pesada variable (VH-CDR1) que

tiene la secuencia de aminoácidos T-S-G- X_1 - X_2 -V- X_3 (SEQ ID NO:99), en donde X_1 , X_2 y X_3 pueden ser cualquier aminoácido, y en donde este anticuerpo se enlaza específicamente a un antígeno de IL-6.

3. El anticuerpo de la reivindicación 2, en donde X_1 es metionina (M) o valina (V).

4. El anticuerpo de la reivindicación 3, en donde X_1 es valina (V).

5. El anticuerpo de la reivindicación 2, en donde X_2 es cisteína (C), alanina (A), serina (S) o glicina (G).

6. El anticuerpo de la reivindicación 2, en donde X_3 es serina (S) o glicina (G).

7. Un anticuerpo monoclonal humano aislado, el cual comprende una CDR2 de cadena pesada variable (VH-CDR2) que tiene la secuencia de aminoácidos X_1 - X_2 - X_3 -W-D-D-D- X_4 - X_5 -Y- X_6 -P-S-L- X_7 - X_8 (SEQ ID NO: 100), en donde X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_5 , X_6 , X_7 y X_8 pueden ser cualquier aminoácido, y en donde este anticuerpo se enlaza específicamente a un antígeno de IL-6.

8. El anticuerpo de la reivindicación 7, en donde X_1 es leucina (L), fenilalanina (F) o valina (V).

9. El anticuerpo de la reivindicación 8, en donde X_1 es leucina (L).

10. El anticuerpo de la reivindicación 7, en donde X_2 es isoleucina (I) o valina (V).

11. El anticuerpo de la reivindicación 10, en donde X_2 es isoleucina (I).

12. El anticuerpo de la reivindicación 7, en donde X_3 es tirosina (Y) o fenilalanina (F).

13. El anticuerpo de la reivindicación 7, en donde X_4 es lisina (K) o arginina (R).

5 14. El anticuerpo de la reivindicación 7, en donde X_5 es arginina (R), tirosina (Y), o histidina (H).

15. El anticuerpo de la reivindicación 7, en donde X_6 es serina (S) o asparagina (N).

10 16. El anticuerpo de la reivindicación 15, en donde X_6 es serina (S).

17. El anticuerpo de la reivindicación 7, en donde X_7 es arginina (R), lisina (K), ácido glutámico (E) o serina (S).

18. El anticuerpo de la reivindicación 17, en donde X_7 es lisina (K).

15 19. El anticuerpo de la reivindicación 7, en donde X_8 es serina (S) o asparagina (N).

20 20. Una molécula de ácido nucleico aislada, la cual comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una CDR1 de cadena pesada variable (VH-CDR1) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 51 a 55 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

25 en donde una molécula de anticuerpo que comprende la

VH-CDR1 mencionada se enlaza específicamente a un antígeno de IL-6.

21. Una molécula de ácido nucleico aislada, la cual comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una CDR2 de cadena pesada variable (VH-CDR2) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:97, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 56 a 61 ó 97 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

en donde una molécula de anticuerpo que comprende la VH-CDR2 mencionada se enlaza específicamente a un antígeno de IL-6.

22. Una molécula de ácido nucleico aislada, la cual comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una CDR3 de cadena pesada variable (VH-CDR3) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:98, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 62 a 73 ó 98 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

en donde una molécula de anticuerpo que comprende la VH-CDR3 mencionada se enlaza específicamente a un antígeno de

IL-6.

23. Una molécula de ácido nucleico aislada, la cual comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una CDR1 de cadena ligera variable (VL-CDR1) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las:
5 SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO: 79, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 74 a 79 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

10 en donde una molécula de anticuerpo que comprende la VL-CDR1 mencionada se enlaza específicamente a un antígeno de IL-6.

24. Una molécula de ácido nucleico aislada, la cual comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una CDR2 de
15 cadena ligera variable (VL-CDR2) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:85, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 80 a 85 excepto por 1 a 5
20 sustituciones de aminoácidos;

en donde una molécula de anticuerpo que comprende la VL-CDR2 mencionada se enlaza específicamente a un antígeno de IL-6.

25. Una molécula de ácido nucleico aislada, la cual
25 comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una CDR3 de

cadena ligera variable (VL-CDR3) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las: SEQ ID NO:86, SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:91, SEQ ID NO:92, SEQ ID NO:93, SEQ ID NO:94, SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, y una secuencia de aminoácidos que es idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 86 a 96 excepto por 1 a 5 sustituciones de aminoácidos;

en donde una molécula de anticuerpo que comprende la VL-CDR3 mencionada se enlaza específicamente a un antígeno de IL-6.

26. Un anticuerpo monoclonal aislado, el cual comprende:

(a) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las:

- (1) H415 (SEQ ID NO:19);
- (2) H884 (SEQ ID NO:20);
- (3) H1077 (SEQ ID NO:21)
- (4) H1078 (SEQ ID NO:22);
- (5) H1079 (SEQ ID NO:23);
- (6) H1081 (SEQ ID NO:24);
- (7) H1089 (SEQ ID NO:25); y

(8) una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 19 a 25; y

(b) una región variable de cadena ligera (VL) que

comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las:

- 5 (9) L112 (SEQ ID NO:1);
(10) L151 (SEQ ID NO:2);
(11) L158 (SEQ ID NO:3);
(12) L159 (SEQ ID NO:4);
(13) L164 (SEQ ID NO:5);
(14) L165 (SEQ ID NO:6);
(15) L166 (SEQ ID NO:7);
10 (16) L167 (SEQ ID NO:8);
(17) L168 (SEQ ID NO:9);
(18) L169 (SEQ ID NO:10);
(19) L170 (SEQ ID NO:11);
(20) L171 (SEQ ID NO:12);
15 (21) L172 (SEQ ID NO:13);
(22) L173 (SEQ ID NO:14);
(23) L174 (SEQ ID NO:15);
(24) L175 (SEQ ID NO:16);
(25) L189 (SEQ ID NO:17);
20 (26) L198 (SEQ ID NO:18); y
(27) una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 1 a 18; y
en donde este anticuerpo se enlaza específicamente a un
25 antígeno de IL-6.

27. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H415 (SEQ ID NO:19) o una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a la misma.

5 28. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H884 (SEQ ID NO:20) o una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a la misma.

10 29. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H1077 (SEQ ID NO:21) o una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a la misma.

15 30. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H1078 (SEQ ID NO:22) o una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a la misma.

20 31. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H1079 (SEQ ID NO:23) o una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a la misma.

32. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H1081 (SEQ ID NO:24) o una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a la misma.

25 33. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH

mencionada comprende H1089 (SEQ ID NO:25) o una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a la misma.

5 34. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H415 (SEQ ID NO:19) y la VL mencionada comprende L112 (SEQ ID NO:1).

 35. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H415 (SEQ ID NO:19) y la VL mencionada comprende L165 (SEQ ID NO:6).

10 36. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H415 (SEQ ID NO:19) y la VL mencionada comprende L172 (SEQ ID NO:13).

 37. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H1079 (SEQ ID NO:23) y la VL mencionada
15 comprende L159 (SEQ ID NO:4).

 38. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H415 (SEQ ID NO:19) y la VL mencionada comprende L198 (SEQ ID NO:18).

20 39. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H1079 (SEQ ID NO:23) y la VL mencionada comprende L198 (SEQ ID NO:18).

 40. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H1081 (SEQ ID NO:24) y la VL mencionada comprende L172 (SEQ ID NO:13).

25 41. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH

mencionada comprende H1077 (SEQ ID NO:21) y la VL mencionada comprende L158 (SEQ ID NO:3).

42. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H1078 (SEQ ID NO:22) y la VL mencionada
5 comprende L158 (SEQ ID NO:3).

43. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH mencionada comprende H1081 (SEQ ID NO:24) y la VL mencionada comprende L159 (SEQ ID NO:4).

44. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VH
10 mencionada es una variante de H1079.

45. El anticuerpo de la reivindicación 44, en donde la variante de H1079 mencionada comprende una o más diferencias de aminoácidos en las CDR1, CDR2 o CDR3 de H1079.

46. El anticuerpo de la reivindicación 45, en donde la
15 variante de H1079 mencionada comprende una o más diferencias de aminoácidos en la CDR3 de H1079.

47. El anticuerpo de la reivindicación 46, en donde la variante de H1079 mencionada se selecciona a partir del grupo que consiste en H1511 (SEQ ID NO:26); H1420 (SEQ ID NO:27); H1432 (SEQ ID NO:28); H1515 (SEQ ID NO:29); H1362 (SEQ ID NO:30); H1437 (SEQ ID NO:31); y H1461 (SEQ ID NO:32).
20

48. El anticuerpo de la reivindicación 46, en donde la variante de H1079 mencionada se selecciona a partir del grupo que consiste en H1519 (SEQ ID NO:38); H1520 (SEQ ID NO:39); H1521 (SEQ ID NO:40); y H1522 (SEQ ID NO:41).
25

49. El anticuerpo de la reivindicación 26, en donde la VL mencionada es una variante de L198.

50. El anticuerpo de la reivindicación 49, en donde la variante de L198 mencionada comprende una o más diferencias de aminoácidos en las CDR1, CDR2 o CDR3 de L198.

51. El anticuerpo de la reivindicación 50, en donde la variante de L198 mencionada comprende una o más diferencias de aminoácidos en la CDR3 de L198.

52. El anticuerpo de la reivindicación 51, en donde la variante de L198 mencionada se selecciona a partir del grupo que consiste en L314 (SEQ ID NO:33); L305 (SEQ ID NO:34); L303 (SEQ ID NO:35); L298 (SEQ ID NO:36); y L321 (SEQ ID NO:37).

53. El anticuerpo de la reivindicación 44, en donde la variante de H1079 mencionada es H1553 (SEQ ID NO:42) o H1579 (SEQ ID NO:43).

54. Un anticuerpo monoclonal aislado, el cual comprende:

(a) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las:

- (1) H1522 (SEQ ID NO:41);
- (2) H1553 (SEQ ID NO:42);
- (3) H1579 (SEQ ID NO:43); y

(4) una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 41 a 43; y

(b) una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las:

- 5 (5) L198 (SEQ ID NO:18)
- (6) L305 (SEQ ID NO:34)
- (7) L314 (SEQ ID NO:33)
- (8) L298 (SEQ ID NO:36)
- (9) L321 (SEQ ID NO:37); y
- 10 (10) una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 18, 33, 34, 36 ó 37; y

en donde este anticuerpo se enlaza específicamente a un antígeno de IL-6.

55. El anticuerpo de la reivindicación 54, en donde la VH mencionada comprende H1522 (SEQ ID NO:41) o una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a la misma.

15

56. El anticuerpo de la reivindicación 54, en donde la VH mencionada comprende H1553 (SEQ ID NO:42) o una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a la misma.

20

57. El anticuerpo de la reivindicación 54, en donde la VH mencionada comprende H1579 (SEQ ID NO:43) o una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a la misma.

25

58. El anticuerpo de la reivindicación 54, en donde la VH mencionada comprende H1522 (SEQ ID NO:41) y la VL mencionada comprende L198 (SEQ ID NO:18).

59. El anticuerpo de la reivindicación 54, en donde la VH
5 mencionada comprende H1522 (SEQ ID NO:41) y la VL mencionada comprende L305 (SEQ ID NO:34).

60. El anticuerpo de la reivindicación 54, en donde la VH mencionada comprende H1522 (SEQ ID NO:41) y la VL mencionada comprende L314 (SEQ ID NO:33).

10 61. El anticuerpo de la reivindicación 54, en donde la VH mencionada comprende H1553 (SEQ ID NO:42) y la VL mencionada comprende L198 (SEQ ID NO:18).

62. El anticuerpo de la reivindicación 54, en donde la VH mencionada comprende H1579 (SEQ ID NO:43) y la VL mencionada
15 comprende L198 (SEQ ID NO:18).

63. El anticuerpo de la reivindicación 54, en donde la VH mencionada comprende H1579 (SEQ ID NO:43) y la VL mencionada comprende L305 (SEQ ID NO:34).

64. El anticuerpo de la reivindicación 54, en donde la VH
20 mencionada comprende H1579 (SEQ ID NO:43) y la VL mencionada comprende L314 (SEQ ID NO:33).

65. El anticuerpo de la reivindicación 54, en donde la VH mencionada comprende H1579 (SEQ ID NO:43) y la VL mencionada comprende L298 (SEQ ID NO:36).

25 66. El anticuerpo de la reivindicación 54, en donde la VH

mencionada comprende H1579 (SEQ ID NO:43) y la VL mencionada comprende L321 (SEQ ID NO:37).

67. Una molécula de ácido nucleico aislada, la cual comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una región variable de cadena pesada (VH) de un anticuerpo anti-IL-6, en donde la VH mencionada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las:

- (1) H415 (SEQ ID NO:19);
- (2) H884 (SEQ ID NO:20);
- (3) H1077 (SEQ ID NO:21)
- (4) H1078 (SEQ ID NO:22);
- (5) H1079 (SEQ ID NO:23);
- (6) H1081 (SEQ ID NO:24);
- (7) H1089 (SEQ ID NO:25); y
- (8) una secuencia de aminoácidos que es cuando menos el 80 por ciento idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 19 a 25.

68. Una molécula de ácido nucleico aislada, la cual comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una región variable de cadena ligera (VL) de un anticuerpo anti-IL-6, en donde la VL mencionada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en las:

- (1) L112 (SEQ ID NO:1);
- (2) L151 (SEQ ID NO:2);
- (3) L158 (SEQ ID NO:3);

- 5 (4) L159 (SEQ ID NO:4);
 (5) L164 (SEQ ID NO:5);
 (6) L165 (SEQ ID NO:6);
 (7) L166 (SEQ ID NO:7);
 (8) L167 (SEQ ID NO:8);
 (9) L168 (SEQ ID NO:9);
 (10) L169 (SEQ ID NO:10);
 (11) L170 (SEQ ID NO:11);
 (12) L171 (SEQ ID NO:12);
 10 (13) L172 (SEQ ID NO:13);
 (14) L173 (SEQ ID NO:14);
 (15) L174 (SEQ ID NO:15);
 (16) L175 (SEQ ID NO:16);
 (17) L189 (SEQ ID NO:17);
 15 (18) L198 (SEQ ID NO:18); y
 (19) una secuencia de aminoácidos que es cuando
 menos el 80 por ciento idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 1 a
 18.

69. Una molécula de ácido nucleico aislada, la cual
 20 comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una región
 determinante de complementariedad (CDR) de una región variable de
 cadena pesada (VH) de un anticuerpo anti-IL-6 seleccionada a partir
 del grupo que consiste en:

- 25 (1) H415 (SEQ ID NO:19);
 (2) H884 (SEQ ID NO:20);

- (3) H1077 (SEQ ID NO:21)
- (4) H1078 (SEQ ID NO:22);
- (5) H1079 (SEQ ID NO:23);
- (6) H1081 (SEQ ID NO:24); y
- 5 (7) H1089 (SEQ ID NO:25).

70. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 69, en donde la secuencia de nucleótidos mencionada codifica una CDR3 de una región variable de cadena pesada (VH) de un anticuerpo anti-IL-6 seleccionada a partir del grupo que consiste en::

- 10 (1) H415 (SEQ ID NO:19);
- (2) H884 (SEQ ID NO:20);
- (3) H1077 (SEQ ID NO:21)
- (4) H1078 (SEQ ID NO:22);
- (5) H1079 (SEQ ID NO:23);
- 15 (6) H1081 (SEQ ID NO:24); y
- (7) H1089 (SEQ ID NO:25).

71. Una molécula de ácido nucleico aislada, la cual comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una región determinante de complementariedad (CDR) de una región variable de

20 cadena ligera (VL) de un anticuerpo anti-IL-6 seleccionada a partir del grupo que consiste en:

- (1) L112 (SEQ ID NO:1);
- (2) L151 (SEQ ID NO:2);
- (3) L158 (SEQ ID NO:3);
- 25 (4) L159 (SEQ ID NO:4);

- (5) L164 (SEQ ID NO:5);
(6) L165 (SEQ ID NO:6);
(7) L166 (SEQ ID NO:7);
(8) L167 (SEQ ID NO:8);
5 (9) L168 (SEQ ID NO:9);
(10) L169 (SEQ ID NO:10);
(11) L170 (SEQ ID NO:11);
(12) L171 (SEQ ID NO:12);
(13) L172 (SEQ ID NO:13);
10 (14) L173 (SEQ ID NO:14);
(15) L174 (SEQ ID NO:15);
(16) L175 (SEQ ID NO:16);
(17) L189 (SEQ ID NO:17); y
(18) L198 (SEQ ID NO:18).

15 72. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 71, en donde la secuencia de nucleótidos mencionada codifica una CDR3 de una región variable de cadena ligera (VL) de un anticuerpo anti-IL-6 seleccionada a partir del grupo que consiste en:

- (1) L112 (SEQ ID NO:1);
20 (2) L151 (SEQ ID NO:2);
(3) L158 (SEQ ID NO:3);
(4) L159 (SEQ ID NO:4);
(5) L164 (SEQ ID NO:5);
(6) L165 (SEQ ID NO:6);
25 (7) L166 (SEQ ID NO:7);

- (8) L167 (SEQ ID NO:8);
(9) L168 (SEQ ID NO:9);
(10) L169 (SEQ ID NO:10);
(11) L170 (SEQ ID NO:11);
5 (12) L171 (SEQ ID NO:12)
(13) L172 (SEQ ID NO:13);
(14) L173 (SEQ ID NO:14);
(15) L174 (SEQ ID NO:15);
(16) L175 (SEQ ID NO:16);
10 (17) L189 (SEQ ID NO:17); y
(18) L198 (SEQ ID NO:18).

73. Un vector de expresión que comprende una molécula de ácido nucleico de la reivindicación 67.

74. Un vector de expresión que comprende una molécula de
15 ácido nucleico de la reivindicación 68.

75. Un vector de expresión que comprende una molécula de ácido nucleico de la reivindicación 69.

76. Un vector de expresión que comprende una molécula de ácido nucleico de la reivindicación 71.

20 77. Una célula hospedera que comprende un vector de expresión de la reivindicación 73.

78. Una célula hospedera que comprende un vector de expresión de la reivindicación 74.

25 79. Una célula hospedera que comprende un vector de expresión de la reivindicación 75.

80. Una célula hospedera que comprende un vector de expresión de la reivindicación 76.

81. Un método para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria, comprendiendo este método administrar un anticuerpo
5 de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 o 26 a 66 a un paciente que lo necesite.

82. Un método para el tratamiento de una enfermedad autoinmune, comprendiendo este método administrar un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 o 26 a 66 a un paciente
10 que lo necesite.

83. El método de la reivindicación 82, en donde la enfermedad autoinmune es artritis reumatoide.

84. Un método para el tratamiento de un cáncer, comprendiendo este método administrar un anticuerpo de cualquiera
15 de las reivindicaciones 1 a 19 o 26 a 66 a un paciente que lo necesite.

85. El método de la reivindicación 84, en donde el cáncer mencionado es mieloma múltiple.

86. El método de la reivindicación 84, en donde el cáncer
20 mencionado se selecciona a partir del grupo que consiste en carcinoma renal, cáncer de mama, cáncer de próstata, linfoma, y linfoma posterior a trasplante.

87. Un método para el tratamiento de artritis juvenil idiopática, comprendiendo este método administrar un anticuerpo de
25 cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 o 26 a 66 a un paciente que

lo necesite.

88. Un método para producir el anticuerpo monoclonal aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 o 26 a 66, comprendiendo este método: (i) cultivar una célula hospedera que
5 exprese una o más secuencias de ácidos nucleicos que codifiquen el anticuerpo mencionado, y (ii) recuperar este anticuerpo a partir del medio de cultivo.

89. El uso del anticuerpo monoclonal aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 o 26 a 66, para la fabricación de un
10 medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno seleccionado a partir del grupo que consiste en una enfermedad o trastorno autoinmune, una enfermedad o trastorno asociado con una angiogénesis aberrante o inapropiada, cáncer, osteoartritis, artritis juvenil idiopática, y condiciones fibróticas.

90. Una composición farmacéutica, la cual comprende el
15 anticuerpo monoclonal aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 o 26 a 66 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

91. El anticuerpo monoclonal aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 o 26 a 66, para utilizarse como un
20 medicamento en el tratamiento de una enfermedad o trastorno seleccionado a partir del grupo que consiste en una enfermedad o trastorno autoinmune, una enfermedad o trastorno asociado con una angiogénesis aberrante o inapropiada, cáncer, osteoartritis, artritis juvenil idiopática, y condiciones fibróticas.

92. El anticuerpo monoclonal aislado de cualquiera de las
25

reivindicaciones 1 a 19 o 26 a 66, en donde este anticuerpo inhibe la proliferación de células inducida por IL-6, tales como células de mieloma B9 de murino (ECACC) o U266 humano en un nivel de inhibición del 80 por ciento o mayor.

- 5 93. El anticuerpo monoclonal aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 o 26 a 66, en donde este anticuerpo se enlaza específicamente a IL-6, inhibiendo el enlace de IL-6 con su receptor, en un nivel de inhibición del 80 por ciento o mayor.

10

15

20

25

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Vaccinex, Inc.

<120> Anticuerpos Monoclonales Anti-IL-6 y Usos de los
5 Mismos

<130> 2521.001PC01

<150> US 60/835,107

<160> 100

<170> PatentIn versión 3.3

10 <210> 1

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 1

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

Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr
20 25 30

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

Lys Ser Val Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

25 Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys .
100 105

5

<210> 2
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 2

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

15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Asp Ser Ser
20 25 30

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

Val Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

20

Asp Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ala Lys Ser Pro
85 90 95

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

25

<210> 3
 <211> 105
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 3

10

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asn/Phe
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Lys Val Ser Ser Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

15

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Arg Arg Phe Pro Leu
 85 90 95

20

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu
 100 105

<210> 4
 <211> 105
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25

<400> 4

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

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

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
100 105

15

<210> 5

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 5

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

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

25

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Leu Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

5 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Arg Pro Leu Thr
85 90 95

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

10

<210> 6

<211> 105

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15

<400> 6

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

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

20

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asp Leu Leu Ile
35 40 45

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

Arg Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

25

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Arg Asn Leu Phe
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
 100 105

5 <210> 7
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 7

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

Asp Ser Val Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gln Lys Met Arg Thr Tyr
 20 25 30

15 Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

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

Arg Ala Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Gln Pro
 65 70 75 80

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

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

 <210> 8
 <211> 107
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

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

5

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

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

10

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

Ser Gly Phe Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Tyr Ser Phe Pro Ile
85 90 95

15

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 9

<211> 107

<212> PRT

20

<213> Homo sapiens

<400> 9

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

25

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

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

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

10 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 10
 <211> 107
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens
 <400> 10

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

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

20 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Arg Asn Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

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

25 Ser Gly Phe Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

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

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

- 5 <210> 11
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 11

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

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

15 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Ser Lys Ala Ser Ser Leu Glu Tyr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ala Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Pro
65 70 75 80

20 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Phe Ala Val Pro Leu
85 90 95

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

- <210> 12
<211> 105
25 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

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

5 Asp Gly Val Thr Met Thr Cys Trp Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Glu Ala Pro Glu Leu Leu Val
35 40 45

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

Ser Gly Ser Glu Thr Tyr Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Ser Ser Phe Pro Leu
85 90 95

15 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
100 105

<210> 13

<211> 105

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 13

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

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

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

His Ala Ser Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

5 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Ser Cys Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Leu Gly
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu
 100 105

10 <210> 14
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 14

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

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

20 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

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

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

<210> 15

<211> 104

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

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

10

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Asn Ile Asn Thr Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Val
35 40 45

15

His Ser Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ala Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Glu Phe Thr Leu Ile Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Asn Thr Leu Thr
85 90 95

20

Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu
100

<210> 16

<211> 107

<212> PRT

25 <213> Homo sapiens

<400> 16

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

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

5 Leu Asn Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Val Pro Thr Leu Leu Ile
35 40 45

Ser Gly Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

10 Ser Gly Phe Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Gly Thr Pro Leu
85 90 95

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

15 <210> 17

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

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

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

25 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ile Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

5 Glu Asp Val Ala Ala Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Phe Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 18

<211> 106

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

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

15 Asp Gly Val Thr Met Thr Cys Trp Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Glu Ala Pro Glu Leu Leu Val
35 40 45

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

Ser Gly Ser Glu Thr Tyr Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

25 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105

<210> 19
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 19

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Ser
 20 25 30

10

Gly Met Cys Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

15

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp
 100 105 110

20

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 115

<210> 20
 <211> 119
 <212> PRT
 25 <213> Homo sapiens

<400> 20

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Ser
20 25 30

5

Gly Met Cys Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

10

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ser His Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

15

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
115

<210> 21

<211> 119

20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

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

25

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

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

5 Trp Leu Ala Leu Val Tyr Trp Asp Asp Asp Arg Arg Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

10 Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 115

<210> 22

15 <211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ile Phe Ser Gly Phe Ser Phe Lys Thr Ser
 20 25 30

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

25 Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser
 50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

5 Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
115

<210> 23

10 <211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

20 Trp Leu Ala Phe Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

25

Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 115

5 <210> 24
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 24

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30

15 Gly Val Ala Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Ala Leu Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys His Tyr Ser Pro Ser
 50 55 60

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

20 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp
 100 105 110

25 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 25
<211> 119
<212> PRT
<213> Homo sapiens
5 <400> 25

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

<210> 26
<211> 119
25 <212> PRT

<220>

<223> Variante H1420 humana

<400> 27

5

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

10

Trp Leu Ala Phe Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

15

Cys Ala Arg Ser Ala Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
115

20

<210> 28

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25

<223> Variante H1432 humana

<400> 28

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

10 Trp Leu Ala Phe Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

15 Cys Ala Arg Ser Gly Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
115

20 <210> 29

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Variante H1515 humana

<400> 29

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

5

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

Trp Leu Ala Phe Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

10

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

15

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
115

<210> 30

<211> 119

<212> PRT

20

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante H1362 humana

<400> 30

25

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

5 Trp Leu Ala Phe Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

10

Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
115

15

<210> 31

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

20

<223> Variante H1437 humana

<400> 31

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

25

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

Trp Leu Ala Phe Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

5 Leu Glu Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

10 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
115

<210> 32

<211> 119

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante H1461 humana

<400> 32

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

Trp Leu Ala Phe Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

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

5 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Thr Trp
100 105 110

10 <210> 33
<211> 106
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Variante L314 humana
15 <400> 33

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

Asp Gly Val Thr Met Thr Cys Trp Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Glu Ala Pro Glu Leu Leu Val
35 40 45

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

25 Ser Gly Ser Glu Thr Tyr Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

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

- 5 <210> 34
- <211> 106
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial
- <220>
- 10 <223> Variante L305 humana

<400> 34

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

15 Asp Gly Val Thr Met Thr Cys Trp Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Glu Ala Pro Glu Leu Leu Val
35 40 45

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

20 Ser Gly Ser Glu Thr Tyr Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

25 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105

<210> 35
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <223> Variante L303 humana
 <400> 35

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

<210> 36
 <211> 106
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante L298 humana

<400> 36

5

10

15

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

<210> 37

<211> 106

<212> PRT

20 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante L321 humana

<400> 37

25

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

Asp Gly Val Thr Met Thr Cys Trp Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Glu Ala Pro Glu Leu Leu Val
 35 40 45
 5 Phe Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ile Gly Val Pro Ser Arg Phe Arg Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Glu Thr Tyr Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Phe Cys Gln Asn Gly Trp Ser Phe Pro Leu
 85 90 95
 10 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105
 <210> 38
 <211> 119
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Variante H1519 humana
 <400> 38
 20 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30
 Gly Val Gly Val Gly Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 25 Trp Leu Ala Phe Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser
 50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

5 Cys Ala Arg Ser Ala Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
115

10 <210> 39
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Variante H1520 humana
15 <400> 39

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

20 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Val Gly Val Gly Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala Phe Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

25 Leu Glu Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ser Ala Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

5 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
115

<210> 40

<211> 119

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante H1521 humana

<400> 40

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

20 Trp Leu Ala Phe Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

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

25 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ser Ala Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 115

<210> 41

5 <211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante H1522 humana

10 <400> 41

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30

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

Trp Leu Ala Phe Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser
 50 55 60

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

20 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

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

25 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 115

<210> 42

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

5 <220>

<223> Variante H1553 humana

<400> 42

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

10 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

Trp Leu Ala Phe Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

15 Leu Glu Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

20 Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
115

<210> 43

<211> 119

25 <212> PRT

<223> Cadena pesada del mAb B-E8 de murino

<400> 44

5
gtcgacccac gcgtccggac atggacaggc ttacttcttc attcctgctg ctgattgtcc 60
ctgcatatgt cttgtcccaa gttactctaa aagagtcttg ccctgggata ttgaagccct 120
cacagaccct cagtctgact tgttctttct ctgggttttc actgagcact tctggtatgg 180
gtgtaggctg gattcgtcag ctttcagga agggctctgga gtggctggca cacatttggt 240
gggatgatga taagtactat aaccatccc tgaagagcca gtcacaatc tccaaggata 300
cctccagaaa ccaggtattc ctcaagatca ccagtgtgga cactgcagat actgccactt 360
actactgtgc tcgatactat gatgactatc ttactatgc ttgggactac tggggtaag 420
gaacctcagt caccgtctcc tcagccaaaa cgacaccccc atctgtctat ccactggccc 480
10 ctggatctgc 490

<210> 45

<211> 470

<212> ADN

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Cadena ligera del mAb B-E8 de murino

<400> 45

20
gtcgacccac gcgtccggaa aatttgaaga tgggtgtccac ttctcagctc cttggacttt 60
tgcttttctg gacttcagcc tccagatgtg acattgtgat gactcagctc ccagccaccc 120
tgtctgtgac tccaggagat agagtctctc ttctctgcag ggccagccag agtattagcg 180
actacttaca ctggtatcaa caaaaatcac atgagtctcc aaggcttctc atcaaatctg 240
tttcccaatc catctctggg atccctcca ggttcagtggt cagtggatca gggtcagatt 300
tcactctcag tatcaacagt gtggaacctg aagatgttgg agtgtattac tgtcaaaatg 360
gtcacagctt tccgtcagc ttccgtgctg ggaccaagct ggagctgaaa cgggctgatg 420
25 ctgcaccaac tgtatccatc tcccaccat catgcgagat tgaacatct 470

<210> 46
 <211> 471
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <223> Cadena pesada del mAb 926 humano
 <400> 46
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 10 Ala His Ser Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys
 20 25 30
 Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu
 35 40 45
 Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Gly Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys
 50 55 60
 15 Ala Leu Glu Trp Leu Ala Phe Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr
 65 70 75 80
 Ser Pro Ser Leu Glu Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys
 85 90 95
 20 Asn Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala
 100 105 110
 Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Ala Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu
 115 120 125
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 130 135 140
 25 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 145 150 155 160

	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu
					165					170					175	
	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His
				180					185					190		
5	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser
			195					200					205			
	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys
		210					215					220				
	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu
10	225					230					235					240
	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
					245					250					255	
	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
				260					265					270		
15	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
			275					280					285			
	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
		290					295					300				
	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr
	305					310					315					320
20	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
					325					330					335	
	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu
				340					345					350		
	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
25			355					360					365			

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
370 375 380

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
385 390 395 400

5 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
405 410 415

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
420 425 430

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
435 440 445

10 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
450 455 460

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 47

15 <211> 233

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Cadena ligera del mAb 926 humano

20 <400> 47

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
20 25 30

25 Phe Val Gly Asp Gly Val Thr Met Thr Cys Trp Ala Ser Gln Ser Ile
35 40 45

	Asn	Asp	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	His	Gln	Arg	Pro	Gly	Glu	Ala	Pro	Glu
	50						55					60				
	Leu	Leu	Val	Phe	Ala	Ala	Ser	Asn	Leu	Gln	Ile	Gly	Val	Pro	Ser	Arg
	65					70					75					80
5	Phe	Arg	Gly	Ser	Gly	Ser	Glu	Thr	Tyr	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Asn	Ser
					85					90					95	
	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Ser	Gly	Thr	Tyr	Phe	Cys	Gln	Asn	Gly	His	Ser
				100					105					110		
	Phe	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr
				115				120					125			
10	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu
	130						135					140				
	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro
	145					150					155					160
	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly
					165					170					175	
15	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr
				180					185					190		
	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His
					195			200					205			
	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val
20	210						215					220				
	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys							
	225					230										
	<210>					48										
	<211>					471										
25	<212>					PRT										

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Cadena pesada del mAb 1339 humano

<400> 48

5	Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly	1	5	10	15
	Ala His Ser Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys	20	25	30	
	Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu	35	40	45	
10	Ser Thr Ser Gly Val Gly Val Gly Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys	50	55	60	
	Ala Leu Glu Trp Leu Ala Phe Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr	65	70	75	80
15	Ser Pro Ser Leu Glu Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys	85	90	95	
	Asn Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala	100	105	110	
	Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Ala Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ser Phe	115	120	125	
20	Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr	130	135	140	
	Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser	145	150	155	160
25	Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu	165	170	175	

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 180 185 190

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 195 200 205

5 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 210 215 220

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 225 230 235 240

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 245 250 255

10 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 260 265 270

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 275 280 285

15 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 290 295 300

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 305 310 315 320

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 325 330 335

20 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 340 345 350

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 355 360 365

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 370 375 380

25

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 385 390 395 400

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 405 410 415

5 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 420 425 430

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 435 440 445

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 450 455 460

10 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 49
 <211> 233
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Cadena ligera del mAb 1339 humano
 <400> 49

20 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15

Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
 20 25 30

Phe Val Gly Asp Gly Val Thr Met Thr Cys Trp Ala Ser Gln Ser Ile
 35 40 45

25 Asn Asp Tyr Leu Asn Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Glu Ala Pro Glu
 50 55 60

3/3

7783

Leu Leu Val Phe Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ile Gly Val Pro Ser Arg
65 70 75 80

Phe Arg Gly Ser Gly Ser Glu Thr Tyr Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser
85 90 95

5 Leu Gln Pro Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Phe Cys Gln Asn Ala His Ser
100 105 110

Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
115 120 125

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
130 135 140

10 Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
145 150 155 160

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
165 170 175

15 Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
180 185 190

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
195 200 205

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
210 215 220

20 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 50

<211> 12076

<212> ADN

25 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Vector de doble gen del mAb 1339 humano

<400> 50

	gctttctcat agctcacgct gtaggtatct cagttcgggtg taggtcgttc gctccaagct	60
5	gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg	120
	tcttgagtcc aaccoggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag	180
	gattagcaga gcgaggtatg taggcgggtgc tacagagttc ttgaagtggg gccctaacta	240
	cggctacact agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg	300
	aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtgggtttttt	360
	tggttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt	420
10	ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga aaactcacgt taagggattt tggcatgag	480
	attatcaaaa aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aatgaagtt ttaaataaat	540
	ctaaagtata tatgagtaaa cttgggtctga cagttaccaa tgcttaataca gtgaggcacc	600
	tatctcagcg atctgtctat ttcggttcac catagttgcc tgactccccg tcgtgtagat	660
	aaactacgata cgggaggggt taccatctgg cccagtgct gcaatgatac cgcgagaccc	720
	acgctcaccc gctocagatt tatcagcaat aaaccagcca gccggaaggg ccgagcgcag	780
15	aagtggctct gcaactttat ccgcctccat ccagtcctatt aattggttgc ggggaagctag	840
	agtaagtagt tcgccagtta atagtttgcg caacggtggt gccattgcta caggcatcgt	900
	gggtgtcacgc tcgtggtttg gtatgggttc attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg	960
	agttacatga tccccatgt tgtgcaaaaa agcgggttagc tccttcgggtc ctccgatcgt	1020
	tgtcagaagt aagttggccg cagtgttatc actcatggtt atggcagcac tgcataattc	1080
	tcttactgtc atgocatccg taagatgctt ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc	1140
20	attctgagaa tagtgtatgc ggcgaccgag ttgctcttgc ccggcggtcaa cacgggataa	1200
	taccgcgcca catagcagaa ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacgtt cttcggggcg	1260
	aaaactctca aggatcttac cgctgttgag atccagttcg atgtaaccca ctctgtgcacc	1320
	caactgatct tcagcatctt ttactttcac cagcgtttct gggtgagcaa aaacaggaag	1380
	gcaaaatgcc gcaaaaaagg gaataagggc gacacggaaa tggtgaatac tcatactctt	1440
	cctttttcaa tattattgaa gcatttatca gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt	1500
25	tgaatgtatt tagaaaaata aacaaatagg gggtccgcgc acatttcccc gaaaagtgcc	1560

	acctgacgtc taagaaacca ttattatcat gacattaacc tataaaaata ggcgtatcac	1620
	gaggccctga tggctctttg cggcaccat cgttcgtaat gttccgtggc accgaggaca	1680
	accctcaaga gaaaatgtaa tcacactggc tcaccttcgg gtgggccttt ctgcgtttat	1740
	aaggagacac tttatgttta agaagggttg taaattcctt gcggctttgg cagccaagct	1800
5	agatccggct gtggaatgtg tgtcagttag ggtgtggaaa gtccccaggc tccccagcag	1860
	gcagaagtat gcaaagcatg catctcaatt agtcagcaac caggtgtgga aagtccccag	1920
	gtccccagc aggcagaagt atgcaaagca tgcattcaa ttagtcagca accatagtcc	1980
	cggccctaac tccgcccac cggccctaata ctccgcccag ttccgcccac tctccgcccc	2040
	atggctgact aatttttttt atttatgcag aggccgaggc cgcctcggcc tctgagctat	2100
	tccagaagta gtgaggaggc ttttttggag gcctaggctt ttgcaaaaag ctagcttggg	2160
10	gccaccgtc agagcacctt ccaccatggc cacctcagca agttcccact tgaacaaaaa	2220
	catcaagcaa atgtacttgt gcctgccccca gggtgagaaa gtccaagcca tgtatatctg	2280
	ggttgatggc actggagaag gactgcgtg caaaaccgc accctggact gtgagcccaa	2340
	gtgtgtagaa gagttacctg agtggaattt tgatggctct agtacctttc agtctgaggg	2400
	ctccaacagt gacatgtatc tcagccctgt tgccatgttt cgggaccctt tccgcagaga	2460
	tcccaacaag ctggtgttct gtgaagtttt caagtacaac cggaagcctg cagagaccaa	2520
15	tttaaggcac tcgtgtaaac ggataatgga catggtgagc aaccagcacc cctggtttgg	2580
	aatggaacag gagtatactc tgatgggaac agatgggac ccttttgggtt ggccttccaa	2640
	tggctttcct gggccccaag gtccgtatta ctgtggtgtg ggcgcagaca aagcctatgg	2700
	cagggatatc gtggaggctc actaccgcgc ctgcttgtat gctggggtca agattacagg	2760
	aacaaatgct gaggtcatgc ctgcccagtg ggaactccaa ataggaccct gtgaaggaat	2820
	ccgcatggga gatcatctct ggggtggccc tttcatcttg catcgagtat gtgaagactt	2880
20	tggggtaata gcaacccttg accccaagcc cattcctggg aactggaatg gtgcaggctg	2940
	ccataccaac ttagcacca aggccatgag ggaggagaat ggtctgaagc acatcgagga	3000
	ggccatcgag aaactaagca agcggcaccg gtaccacatt cgagcctacg atcccaaggg	3060
	gggcctggac aatgcccgtg gtctgactgg gttccacgaa acgtccaaca tcaacgactt	3120
	ttctgctggc gtgcgaatc gcagtgccag catccgcatt ccccgactg tcggccagga	3180
	gaagaaaggc tactttgaag accgcggccc ctctgccaat tgtgaccctt ttgcagtgc	3240
25	agaagccatc gtccgcacat gccttctcaa tgagactggc gacgagccct tccaatacaa	3300

	aaactaatta gactttgagt gatcttgagc ctttcctagt tcatcccacc ccgccccaga	3360
	gagatctttg tgaaggaacc ttacttctgt ggtgtgacat aattggacaa actacctaca	3420
	gagatttaaa gctctaaggt aaatataaaa tttttaagtg tataatgtgt taaactactg	3480
	attctaattg tttgtgtatt ttagattcca acctatggaa ctgatgaatg ggagcagtgg	3540
	tggaatgcct ttaatgagga aaacctgttt tgctcagaag aaatgccatc tagtgatgat	3600
5	gaggctactg ctgactctca acattctact cctccaaaaa agaagagaaa ggtagaagac	3660
	cccaaggact ttccttcaga attgctaagt tttttgagtc atgctgtggt tagtaataga	3720
	actcttgctt gctttgctat ttacaccaca aaggaaaaag ctgcactgct atacaagaaa	3780
	attatggaaa aatattctgt aacctttata agtaggcata acagttataa tcataacata	3840
	ctgttttttc ttactccaca caggcataga gtgtctgcta ttaataacta tgctcaaaaa	3900
	ttgtgtacct ttagcttttt aatttgtaaa ggggttaata aggaatattt gatgtatagt	3960
10	gccttgacta gagatcataa tcagccatac cacatttgta gaggttttac ttgctttaaa	4020
	aaacctccca cacctcccc tgaacctgaa acataaaatg aatgcaattg ttgttgtaa	4080
	cttgtcttatt gcagcttata atgggttaca ataaagcaat agcatcacia atttcacaaa	4140
	taaagcattt ttttcaactgc attctagttg tggtttgccc aaactcatca atgtatctta	4200
	tcatgtctgg atctctagct tcgtgtcaag gacggtgact gcagtgaata ataaaatgtg	4260
	tgtttgccc aaatacgcgt tttgagattt ctgtcgccga ctaaattcat gtcgcgcgat	4320
15	agtgggtgtt atcgccgata gagatggcga tattggaaaa atcgatattt gaaaatatgg	4380
	catattgaaa atgtcgccga tgtgagtttc tgtgtaactg atatcgccat ttttccaaaa	4440
	gtgatttttg ggcatacgcg atatctggcg atagcgctta tatcgtttac gggggatggc	4500
	gatagacgac tttggtgact tgggcgattc tgtgtgtcgc aaatatcgca gtttcgatat	4560
	aggtgacaga cgatatgagg ctatatcgcc gatagaggcg acatcaagct ggcacatggc	4620
	caatgcatat cgatctatac attgaatcaa tattggccat tagccatatt attcattggc	4680
20	tatatagcat aaatcaatat tggctattgg ccattgcata cgttgtatcc atatcataat	4740
	atgtacattt atattggctc atgtccaaca ttaccgccat gttgacattg attattgact	4800
	agttattaat agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata gcccatatat ggagttccgc	4860
	gttacataac ttacggtaaa tggccgcct ggctgaccgc ccaacgaccc ccgcccattg	4920
	acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag ggactttcca ttgacgtcaa	4980
	tgggtggagt atttacggta aactgccac ttggcagtac atcaagtgt tcatatgcc	5040
25	agtacgcccc ctattgacgt caatgacggt aaatggcccg cctggcatta tgcccagtac	5100

	atgaccttat	gggactttcc	tacttggcag	tacatctacg	tattagtcac	cgctattacc	5160
	atggtgatgc	ggttttggca	gtacatcaat	gggcgtggat	agcggtttga	ctcacgggga	5220
	tttccaagtc	tccaccccat	tgacgtcaat	gggagtttgt	tttggcacca	aatcaacgg	5280
	gaactttcaa	aatgtcgtaa	caactccgcc	ccattgacgc	aaatgggcgg	taggcgtgta	5340
	cgggtgggagg	tctatataag	cagagctcgt	ttagtgaacc	gtcagatcgc	ctggagacgc	5400
5	catccacgct	gttttgacct	ccatagaaga	caccgggacc	gatccagcct	cgcgggccgg	5460
	gaacgggtgca	ttggaacgcg	gattccccgt	gccaaagagt	acgtaagtac	cgcctataga	5520
	gtctataggc	ccacccccct	ggcttcttat	gcatgctata	ctgtttttgg	cttgggggtct	5580
	atacaccccc	gcttcctcat	gttatagggt	atggtatagc	ttagcctata	ggtgtggggt	5640
	attgaccatt	attgaccact	cccctattgg	tgacgatact	ttccattact	aatccataac	5700
	atggctcttt	gccacaactc	tctttattgg	ctatatgcc	atacactgtc	cttcagagac	5760
10	tgacacggac	tctgtatttt	tacaggatgg	ggtctcattt	attatttaca	aattcacata	5820
	tacaacacca	ccgtccccag	tgcccgagc	ttttattaaa	cataacgtgg	gatctcacgc	5880
	gaatctcggg	tacgtgttcc	ggacatgggc	tcttctccgg	tagcggcgga	gcttctacat	5940
	ccgagccctg	ctcccatgcc	tccagcgact	catggtcgct	cggcagctcc	ttgctcctaa	6000
	cagtggaggc	cagacttagg	cacagcacga	tgcccaccac	caccagtgtg	ccgcacaagg	6060
	ccgtggcggg	agggtatgtg	tctgaaaatg	agctcgggga	gcgggcttgc	accgctgacg	6120
15	catttggaag	acttaaggca	gcggcagaag	aagatgcagg	cagctgagtt	gttgtgttct	6180
	gataagagtc	agaggtaact	cccgttgccg	tgctgttaac	ggtggagggc	agtgtagtct	6240
	gagcagtact	cgttgctgcc	gcgcgcgcca	ccagacataa	tagctgacag	actaacagac	6300
	tgttcctttc	catgggtctt	ttctgcagtc	accgtccttg	acacgaagct	taagccgcca	6360
	ccatgggatg	gagctgtatc	atcctcttct	tggtagcaac	agctacaggc	gtgcactccg	6420
	acatccagat	gacccagtct	cctcctccc	tgtctgcttt	tgtgggagac	ggagtcacca	6480
20	tgacttggtg	ggcaagtcag	agtatcaacg	actattttaa	ttggtatcac	cagaggccag	6540
	gggaggcccc	tgagctcctg	gtctttgctg	cctccaattt	gcaaattgga	gtcccgtcaa	6600
	ggttcagggg	cagtggatct	gagacgtatt	tcactttaac	tatcaacagt	ctgcaacctg	6660
	aagatagtgg	cacatacttc	tgtcagaatg	ctcactcttt	cccgttact	ttcggcggag	6720
	ggaccaagct	cgagatcaaa	cgtacgggtg	ctgcaccatc	tgtcttcac	ttcccgcct	6780
	ctgatgagca	gttgaaatct	ggaactgcct	ctgttggtg	cctgctgaat	aacttctatc	6840
25	ccagagaggc	caaagtacag	tggaagggtg	ataacgcctc	ccaatcgggt	aactcccagg	6900

agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagoago acctgacgc 6960
 tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc 7020
 tgagctcggc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttaggaattc attgatcata 7080
 atcagccata ccacatttgt agaggtttta cttgctttaa aaaacctccc acacctcccc 7140
 5 ctgaacctga aacataaaat gaatgcaatt gttgttggtta acttgtttat tgcagcttat 7200
 aatgggttaca aataaagcaa tagcatcaca aatttcacaa ataaagcatt tttttcactg 7260
 cattctagtt gtggtttgtc caaactcatc aatgtatctt atcatgtctg ggggcccgcg 7320
 atatttgaaa atatggcata ttgaaaatgt cggcgatgtg agtttctgtg taactgatat 7380
 cgccattttt ccaaaagtga tttttgggca tacgcgatat ctggcgatag cgcttatatc 7440
 gtttacgggg gatggcgata gacgactttg gtgacttggg cgattctgtg tgtcgcaaat 7500
 10 atcgagttt cgatataggt gacagacgat atgaggctat atcgccgata gaggcgacat 7560
 caagctggca catggccaat gcatatcgat ctatacattg aatcaatatt ggccattagc 7620
 catattattc attgggtata tagcataaat caatattggc tattggccat tgcatacgtt 7680
 gtatccatat cataatatgt acatttatat tggctcatgt ccaacattac cgccatgttg 7740
 acattgatta ttgactagtt attaatagta atcaattacg ggtcatttag ttcataagccc 7800
 atatatggag ttccgcgta cataacttac ggtaaatggc ccgcctggct gaccgcccac 7860
 15 cgacccccgc ccattgacgt caataatgac gtatgttccc atagtaacgc caatagggac 7920
 tttccattga cgtcaatggg tggagtattt acggtaaact gccacttgg cagtacatca 7980
 agtgtatcat atgccaagta cgcacctat tgacgtcaat gacggtaa at ggccgcctg 8040
 gcattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca tctacgtatt 8100
 agtcatcgtt attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc gtggatagcg 8160
 gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga gtttgttttg 8220
 20 gcacaaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat tgacgcaaat 8280
 gggcggtagg cgtgtacggt gggaggtcta tataagcaga gtcggttag tgaaccgtca 8340
 gatcgccctg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagacacc gggaccgatc 8400
 cagcctccgc ggccgggaac ggtgcattgg aacgcggatt ccccgtgcca agagtgcgt 8460
 aagtaccgoc tatagagtat ataggcccac ccccttggct tcttatgcat gctatactgt 8520
 ttttggttg gggctctatac acccccgtt cctcatgtta taggtgatgg tatagcttag 8580
 cctatagggtg tgggttattg accattattg accactcccc tattgggtgac gatactttcc 8640

25

	attactaatc cataacatgg ctcttttgcca caactctctt tattggctat atgccaatac	8700
	actgtccttc agagactgac acggactctg tattttttaca ggatgggggtc tcattttatta	8760
	tttacaaatt cacatataca acaccaccgt cccagtgcc cgcagttttt attaaacata	8820
	acgtgggatc tccacgcgaa tctcgggtac gtgttccgga catgggctct tctccggtag	8880
	cggcggagct tctacatccg agccctgctc ccatgcctcc agcgactcat ggtcgcctcg	8940
5	cagctccttg ctcttaacag tggaggccag acttaggcac agcacgatgc ccaccaccac	9000
	cagtgtgccg cacaaggccg tggcggtagg gtatgtgtct gaaaatgagc tcggggagcg	9060
	ggcttgacc gctgacgcat ttggaagact taaggcagcg gcagaagaag atgcaggcag	9120
	ctgagttgtt gtgttctgat aagagtcaga ggtaactccc gttgcgggtgc tgttaacggt	9180
	ggagggcagt gtagtctgag cagtactcgt tgctgcgcg cgcgccacca gacataatag	9240
	ctgacagact aacagactgt tcttttccat gggctctttt tgcagtcacc gtccttgaca	9300
10	cgaagcttaa gccgccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc	9360
	tacaggcgcg cactcccaag tcactttgaa ggagtctggg cctacgctgg tgaaaccac	9420
	acagaccctc acgctgacct gcagcttctc tgggttctca ctcagcacta gtggagtggg	9480
	tgtgggctgg gtccgtcagc ccccaggaaa ggccctggag tggcttgcac tcatttggtg	9540
	ggatgatgat aagtactaca gccgctctct ggagagcagg ctcaccatca ccaaggacac	9600
	ctccaaaaac caggtgggtcc ttacaatgac caacatggac cctgtggaca cagccacata	9660
15	ttactgtgca cgatccgctg atgactatct ttactattct tttgacacgt ggggcccagg	9720
	aaccctggtc accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggctcttc ccctggcacc	9780
	ctcctccaag agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt	9840
	ccccgaaccg gtgacggtgt cgtggaactc aggcgcctg accagcggcg tgcacacctt	9900
	cccggtgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc	9960
	cagcagcttg ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat cacaagccca gcaacaccaa	10020
20	ggtggacaag agagtgggtg agaggccagc acagggaggg aggggtgtctg ctggaagcca	10080
	ggctcagcgc tcctgcctgg acgcatccc gctatgcagt cccagtcagc ggcagcaagg	10140
	caggccccgt ctgcctcttc acccgagggc ctctgcccgc cccactcatg ctcagggaga	10200
	gggtcttctg gctttttccc caggctctgg gcaggcacag gctaggtgcc cctaaccag	10260
	gccctgcaca caaaggggca ggtgctgggc tcagaactgc caagagccat atccgggagg	10320
	accctgcccc tgacctaaag ccaccccaaa ggccaaactc tccactccct cagctcggac	10380
25	accttctctc ctcccagatt ccagtaactc ccaatcttct ctctgcagag cccaaatctt	10440

	gtgacaaaac	tcacacatgc	ccaccgtgcc	caggtaagcc	agcccaggcc	tcgccctcca	10500
	gctcaaggcg	ggacaggtgc	cctagagtag	cctgcatcca	gggacaggcc	ccagccgggt	10560
	gctgacacgt	ccacctccat	ctcttctca	gcacctgaac	tcctgggggg	accgtcagtc	10620
	ttctcttcc	ccccaaaacc	caaggacacc	ctcatgatct	cccggacccc	tgaggtcaca	10680
5	tgcggtggtg	tggacgtgag	ccacgaagac	cctgaggtca	agttcaactg	gtacgtggac	10740
	ggcggtggagg	tgcataatgc	caagacaaag	ccgcgggagg	agcagtacaa	cagcacgtac	10800
	cgtgtggtca	gcgtcctcac	cgctctgcac	caggactggc	tgaatggcaa	ggagtacaag	10860
	tgcaaggtct	ccaacaaagc	cctcccagcc	cccatcgaga	aaaccatctc	caaagccaaa	10920
	ggtgggaccc	gtggggtgcg	agggccacat	ggacagaggc	cggctcggcc	caccctctgc	10980
	cctgagagtg	accgctgtac	caacctctgt	ccctacaggg	cagccccgag	aaccacaggt	11040
10	gtacaccctg	cccccatccc	gggaggagat	gaccaagaac	caggtcagcc	tgacctgcct	11100
	ggtcaaaggc	ttctatccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	gagagcaatg	ggcagccgga	11160
	gaacaactac	aagaccacgc	ctcccgtgct	ggactccgac	ggctccttct	tcctctatag	11220
	caagctcacc	gtggacaaga	gcaggtggca	gcaggggaac	gtcttctcat	gctccgtgat	11280
	gcatgaggct	ctgcacaacc	actacacgca	gaagagcctc	tcctgtctc	cgggtaadata	11340
	ggaattcatt	gatcataatc	agccatacca	catttgtaga	ggttttactt	gctttaaaaa	11400
15	acctcccaca	cctccccctg	aacctgaaac	ataaaatgaa	tgcaattggt	gttggttaact	11460
	tgtttattgc	agcttataat	ggttaciaat	aaagcaatag	catcaciaat	ttcaciaata	11520
	aagcattttt	ttcactgcat	tctagttgtg	gtttgtccaa	actcatcaat	gtatcttatc	11580
	atgtctggat	cctctacgcc	ggacgcacgc	tggccggcat	caccggcgcc	acaggtgcgg	11640
	ttgctggcgc	ctatatcgcc	gacatcaccg	atggggaaga	tcgggctcgc	cacttcgggc	11700
20	tcatgagcgc	ttgtttcggc	gtgggtatgg	tggcaggccc	cgtggccggg	ggactggtgg	11760
	gcgccatctc	cttgcatgca	ccattccttg	cggcgccggg	gctcaacggc	ctcaacctac	11820
	tactgggctg	cttcctaatt	caggagtgcg	ataagggaga	gcgtcgacct	cgggcccgcgt	11880
	tgctggcggt	tttccatagg	ctccgcccc	ctgacgagca	tcacaaaaat	cgacgctcaa	11940
	gtcagaggtg	gcgaaacccg	acaggactat	aaagatacca	ggcgtttccc	cctggaagct	12000
	ccctcgtgcg	ctctcctggt	ccgaccctgc	cgtttaccgg	atacctgtcc	gcctttctcc	12060
25	cttcgggaag	cgtggc					12076

	<210>	51
	<211>	7
	<212>	PRT
5	<213>	Secuencia Artificial
	<220>	
	<223>	VH CDR1 Humana
	<400>	51
	Thr Ser Gly Met Cys Val Ser	
10	1	5
	<210>	52
	<211>	7
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia Artificial
15	<220>	
	<223>	VH CDR1 Humana
	<400>	52
	Thr Ser Gly Val Ala Val Gly	
	1	5
20	<210>	53
	<211>	7
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia Artificial
	<220>	
25	<223>	VH CDR1 Humana

<400> 53

Thr Ser Gly Val Ser Val Gly

1 5

<210> 54

5 <211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VH CDR1 Humana

10 <400> 54

Thr Ser Gly Val Gly Val Gly

1 5

<210> 55

<211> 7

15 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VH CDR1 Humana

<400> 55

20 Thr Ser Gly Val Ala Val Asn

1 5

<210> 56

<211> 16

<212> PRT

25 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VH CDR2 Humana

<400> 56

Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser Leu Arg Ser

5 1 5 10 15

<210> 57

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

10 <220>

<223> VH CDR2 Humana

<400> 57

Leu Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys His Tyr Ser Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

15 <210> 58

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

20 <223> VH CDR2 Humana

<400> 58

Leu Val Tyr Trp Asp Asp Asp Arg Arg Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asn

1 5 10 15

<210> 59

25 <211> 16

<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> VH CDR2 Humana
5 <400> 59
Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser Leu Lys Asn
1 5 10 15
<210> 60
<211> 16
10 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> VH CDR2 Humana
<400> 60
15 Phe Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu Glu Ser
1 5 10 15
<210> 61
<211> 16
20 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> VH CDR2 Humana
<400> 61
Val Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Arg Arg Tyr Ser Pro Ser Leu Ser Ser
25 1 5 10 15

<210> 62
<211> 12
<212> PRT
5 <213> Secuencia Artificial
<220>
<223> VH CDR3 Humana
<400> 62
Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr
10 1 5 10
<210> 63
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
15 <220>
<223> VH CDR3 Humana
<400> 63
Phe Tyr Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr
1 5 10
20 <210> 64
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
25 <223> VH CDR3 Humana

<400> 64

Ser Ala Asp Asp Tyr eu Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 65

5 <211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VH CDR3 Humana

10 <400> 65

Ser Gly Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 66

<211> 12

15 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VH CDR3 Humana

<400> 66

20 Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 67

<211> 12

<212> PRT

25 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VH CDR3 Humana

<400> 67

Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ser Leu Asp Tyr

5 1 5 10

<210> 68

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

10 <220>

<223> VH CDR3 Humana

<400> 68

Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

15 <210> 69

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

20 <223> VH CDR3 Humana

<400> 69

Ser Tyr Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Thr

1 5 10

<210> 70

25 <211> 12

<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> VH CDR3 Humana
5 <400> 70
Ser Ala Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ser Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 71
<211> 12
10 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial
<220>
<223> VH CDR3 Humana
<400> 71
15 Ser Ala Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 72
<211> 12
<212> PRT
20 <213> Secuencia Artificial
<220>
<223> VH CDR3 Humana
<400> 72
Ser Ala Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ser Phe Asp Tyr
25 1 5 10

<210> 73
 <211> 12
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VH CDR3 Humana
 <400> 73
Ser Ala Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ser Phe Asp Thr
 10 1 5 10
 <210> 74
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> VL CDR1 Humana
 <400> 74
Arg Ala Ser Gln Thr Ile Asp Ser Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10
 20 <210> 75
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 25 <223> VL CDR1 Humana

<400> 75

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asp An Phe Leu Ala

1 5 10

<210> 76

5 <211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VL CDR1 Humana

10 <400> 76

Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 77

<211> 11

15 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VL CDR1 Humana

<400> 77

20 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ile Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 78

<211> 11

<212> PRT

25 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VL CDR1 Humana

<400> 78

Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asp Phe Leu Asn

5 1 5 10

<210> 79

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

10 <220>

<223> VL CDR1 Humana

<400> 79

Trp Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asp Tyr Leu Asn

1 5 10

15 <210> 80

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

20 <223> VL CDR2 Humana

<400> 80

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 81

25 <211> 7

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VL CDR2 Humana
 5 <400> 81
Lys Val Ser Ser Leu Arg Ser
 1 5
 <210> 82
 <211> 7
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VL CDR2 Humana
 <400> 82
 15 **Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser**
 1 5
 <210> 83
 <211> 7
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VL CDR2 Humana
 <400> 83
Ala Thr Ser Thr Leu Gln Ser
 25 1 5

	<210>	84
	<211>	7
	<212>	PRT
5	<213>	Secuencia Artificial
	<220>	
	<223>	VL CDR2 Humana
	<400>	84
	Ala Ser Ser Asn Leu Gln Ser	
10	1	5
	<210>	85
	<211>	7
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia Artificial
15	<220>	
	<223>	VL CDR2 Humana
	<400>	85
	Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ile	
	1	5
20	<210>	86
	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia Artificial
	<220>	
25	<223>	VL CDR3 Humana

	<400>	86
	Gln Gln Tyr Ala Lys Ser Pro Ile Thr	
	1	5
	<210>	87
5	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia Artificial
	<220>	
	<223>	VL CDR3 Humana
10	<400>	87
	Gln Gln Thr Arg Arg Phe Pro Leu Thr	
	1	5
	<210>	88
	<211>	9
15	<212>	PRT
	<213>	Secuencia Artificial
	<220>	
	<223>	VL CDR3 Humana
	<400>	88
20	Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr	
	1	5
	<210>	89
	<211>	9
	<212>	PRT
25	<213>	Secuencia Artificial

<220>

<223> VL CDR3 Humana

<400> 89

Gln Gln Thr Tyr Arg Asn Leu Phe Thr

5 1 5

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

10 <220>

<223> VL CDR3 Humana

<400> 90

Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Leu Gly Thr

1 5

15 <210> 91

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

20 <223> VL CDR3 Humana

<400> 91

Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 92

25 <211> 9

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VL CDR3 Humana
 5 <400> 92
 Gln Ser Gly His Ser Phe Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 93
 <211> 9
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VL CDR3 Humana
 <400> 93
 15 Gln His Gly His Ser Phe Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 94
 <211> 9
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VL CDR3 Humana
 <400> 94
 Gln Leu Gly His Ser Phe Pro Leu Thr
 25 1 5

	<210>	95
	<211>	9
	<212>	PRT
5	<213>	Secuencia Artificial
	<220>	
	<223>	VL CDR3 Humana
	<400>	95
	Gln Asn Ala His Ser Phe Pro Leu Thr	
10	1	5
	<210>	96
	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia Artificial
15	<220>	
	<223>	VL CDR3 Humana
	<400>	96
	Gln Asn Gly Trp Ser Phe Pro Leu Thr	
	1	5
20	<210>	97
	<211>	16
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia Artificial
	<220>	
25	<223>	VH CDR2 Humana

<400> 97

Leu Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser Leu Glu Thr

1 5 10 15

<210> 98

5 <211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VH CDR3 Humana

10 <400> 98

Ser His Asp Asp Tyr Leu Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 99

<211> 7

15 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> VH CDR1 Humana

<220>

20 <221> CARACTERÍSTICAS_VARIAS

<222> (4) .. (4)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_VARIAS

25 <222> (5) .. (5)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_VARIAS
 <222> (7) .. (7)
 5 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <400> 99
 Thr Ser Gly Xaa Xaa Val Xaa
 1 5
 <210> 100
 10 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> VH CDR2 Humana
 15 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_VARIAS
 <222> (1) .. (1)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <220>
 20 <221> CARACTERÍSTICAS_VARIAS
 <222> (2) .. (2)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_VARIAS
 25 <222> (3) .. (3)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_VARIAS
 <222> (8) .. (8)
 5 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_VARIAS
 <222> (9) .. (9)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 10 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_VARIAS
 <222> (11) .. (11)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <220>
 15 <221> CARACTERÍSTICAS_VARIAS
 <222> (15) .. (15)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_VARIAS
 20 <222> (16) .. (16)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
 <400> 100

Xaa Xaa Xaa Trp Asp Asp Asp Xaa Xaa Tyr Xaa Pro Ser Leu Xaa Xaa

1

5

10

15

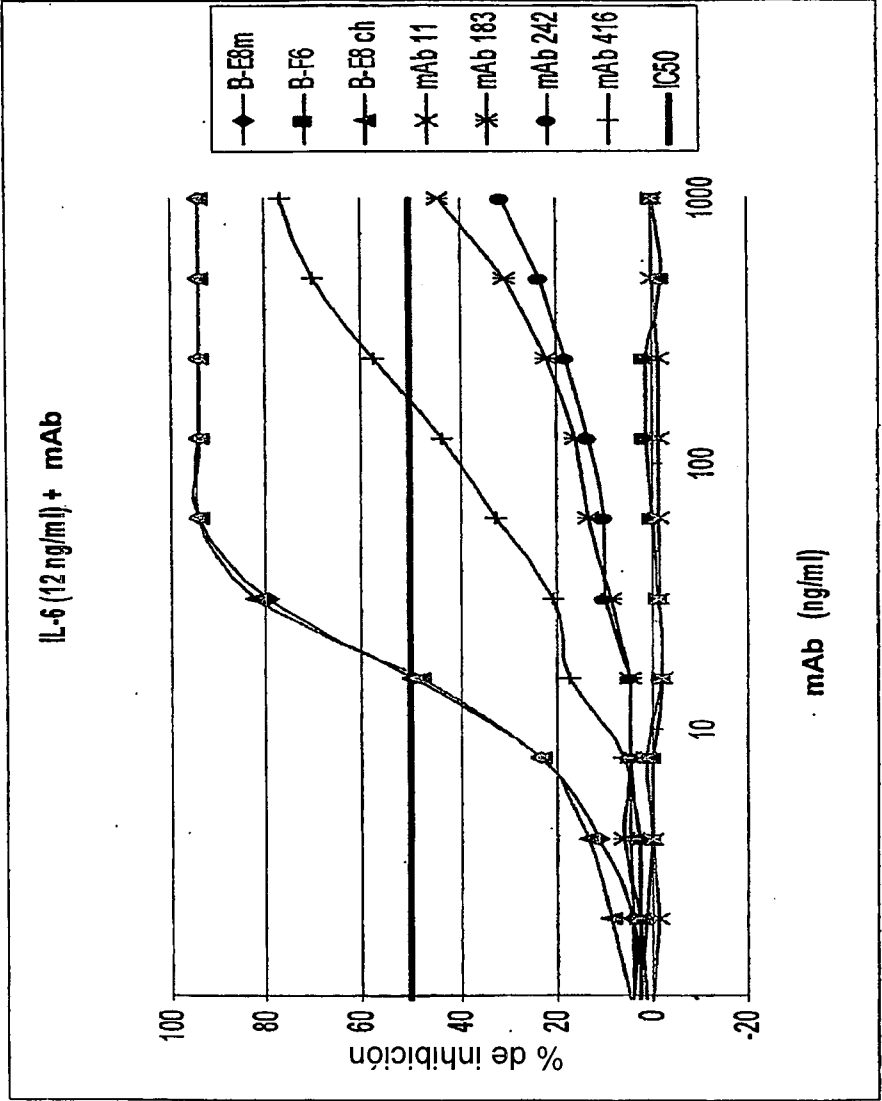


Fig. 2

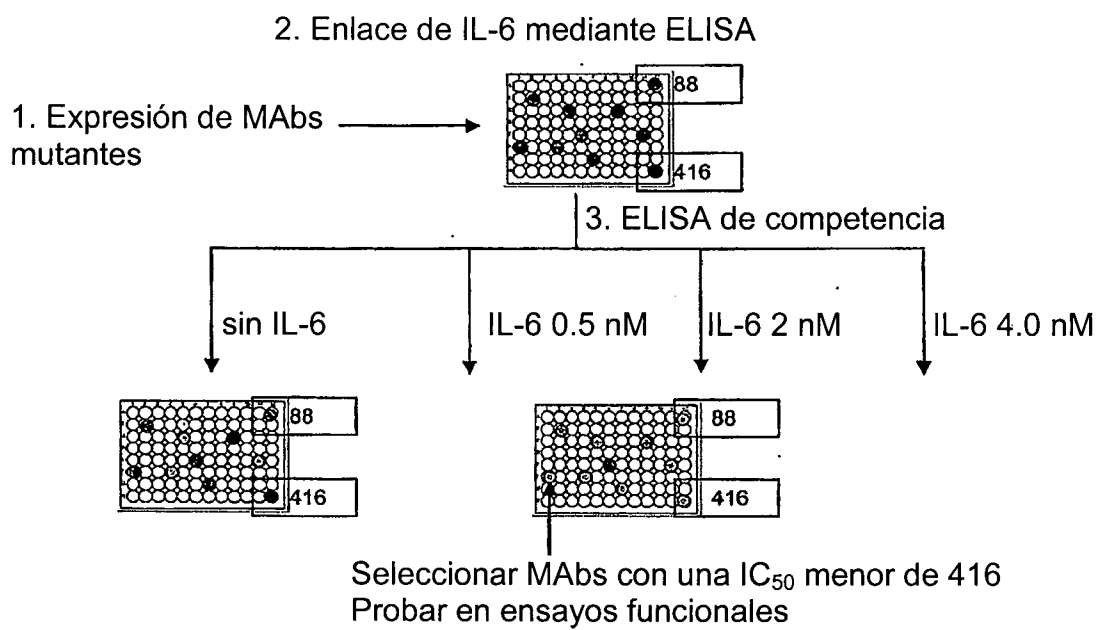


FIG. 3

Bloqueo de IL-6 con MAbs mutantes

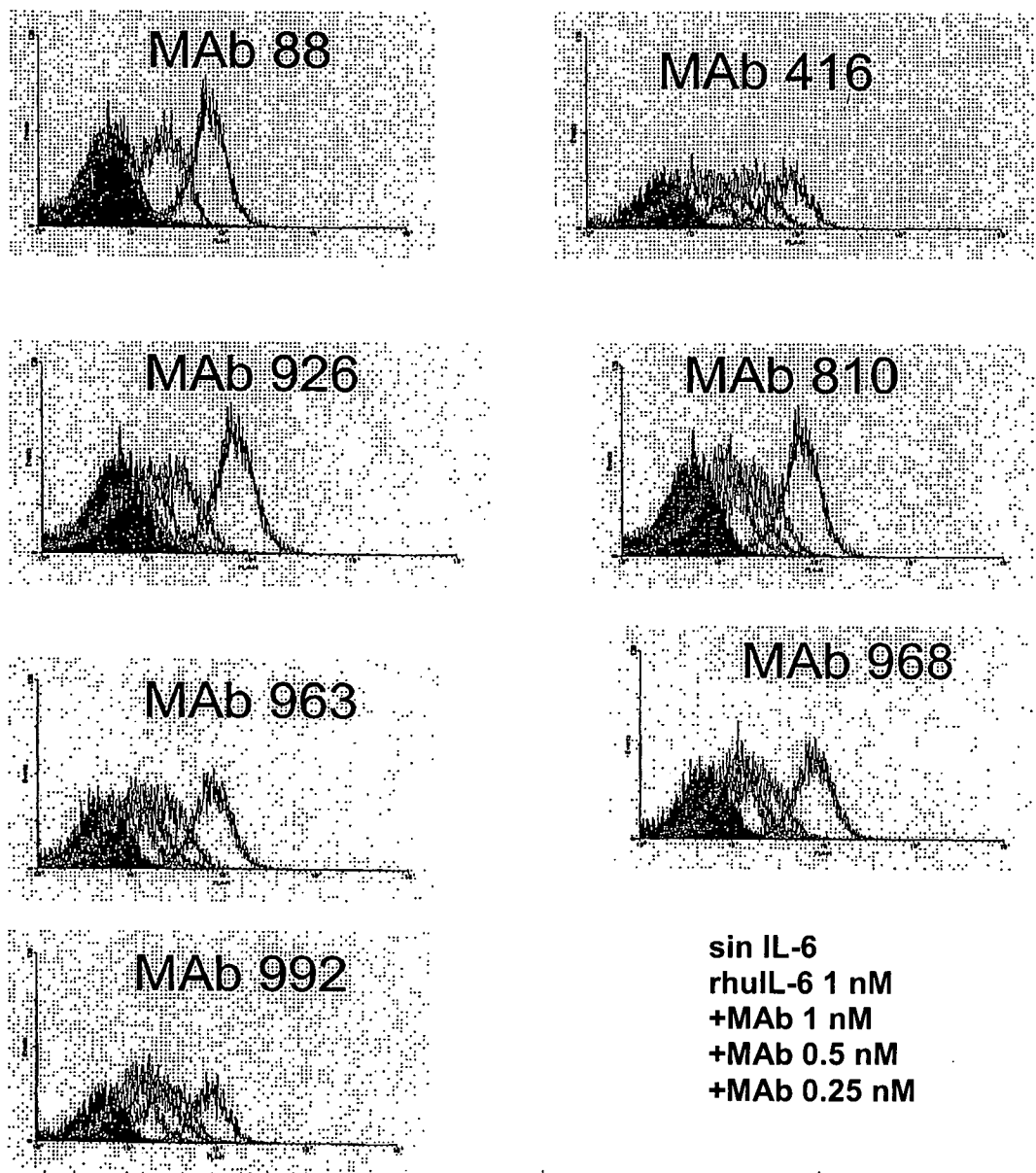


FIG. 4

MAb88 – Especificidad de enlace de prueba con otras citoquinas de la súper-familia de IL-6

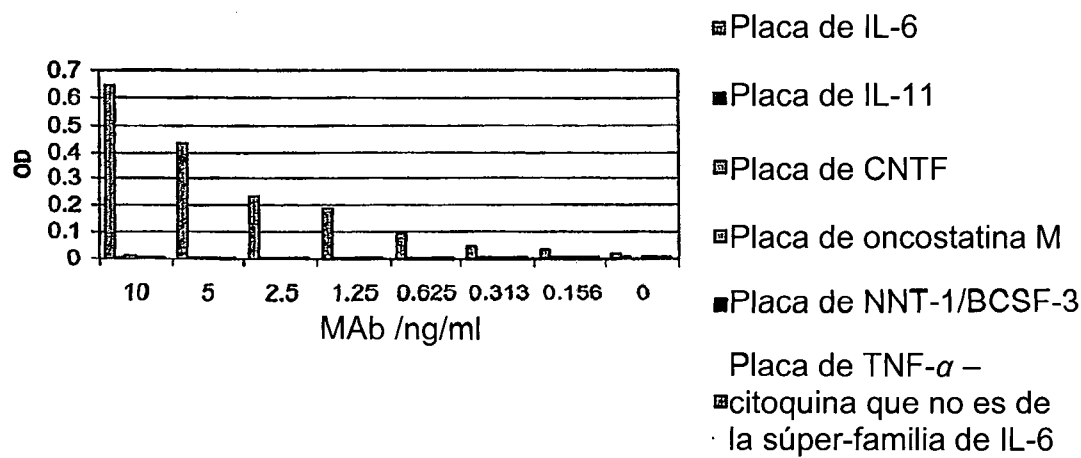


FIG. 5A

MAb1339 – Especificidad de enlace de prueba con otras citoquinas de la súper-familia de IL-6

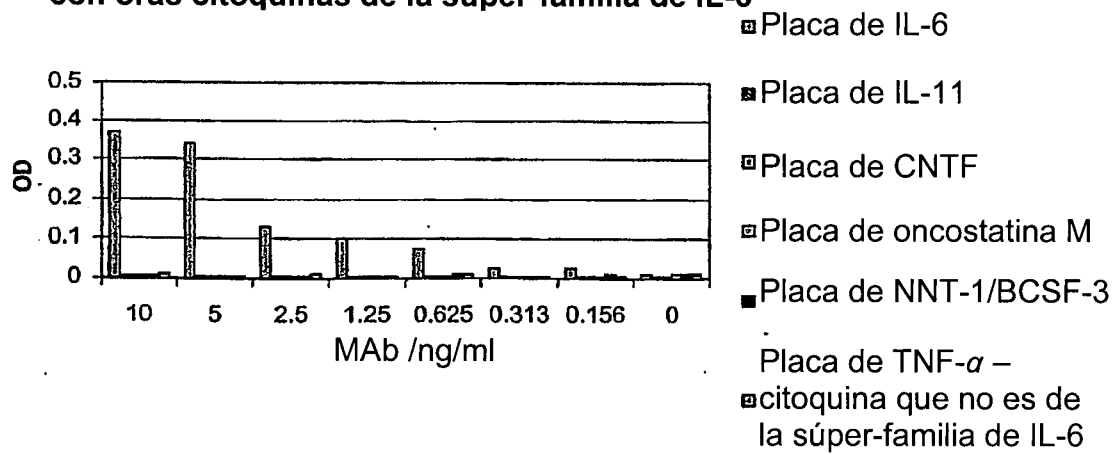


FIG. 5B

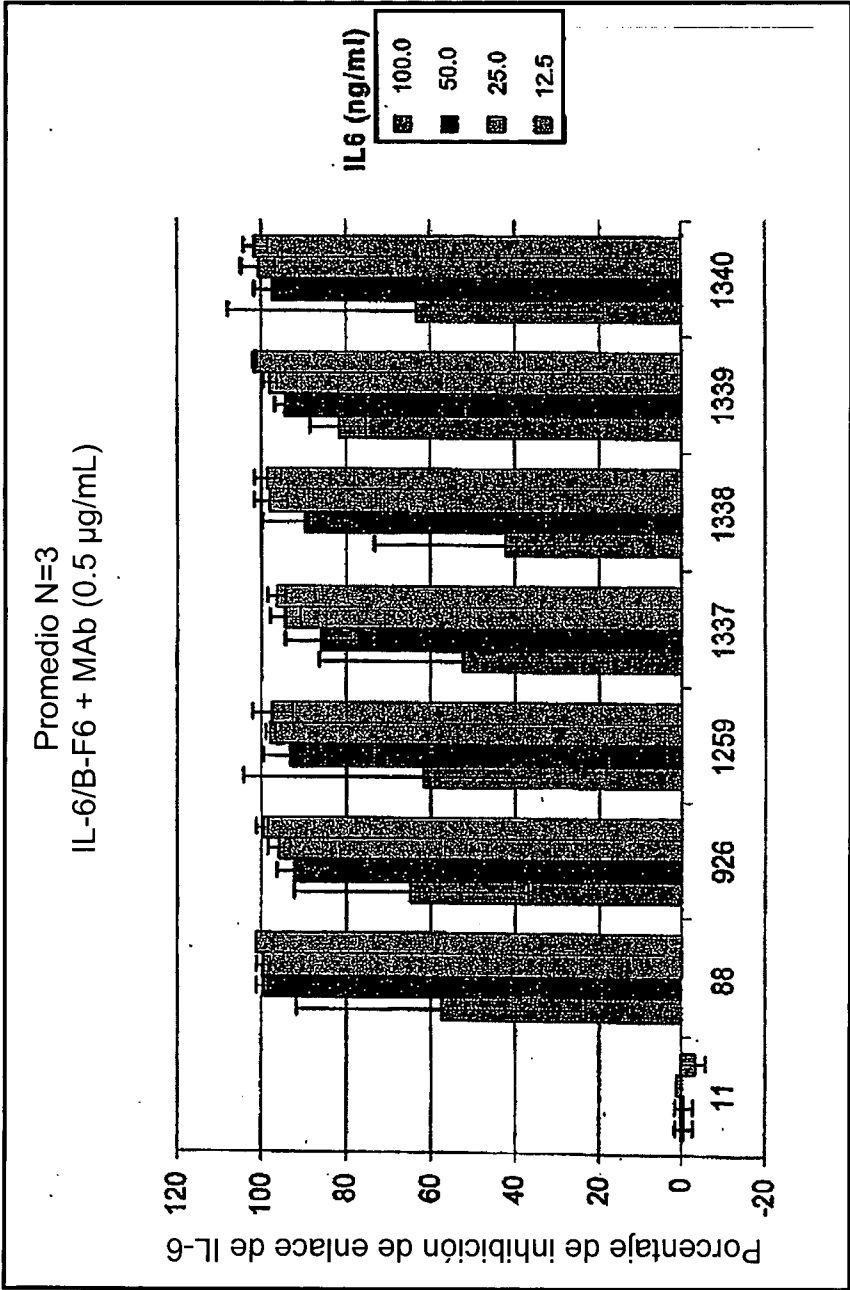


Fig. 6A

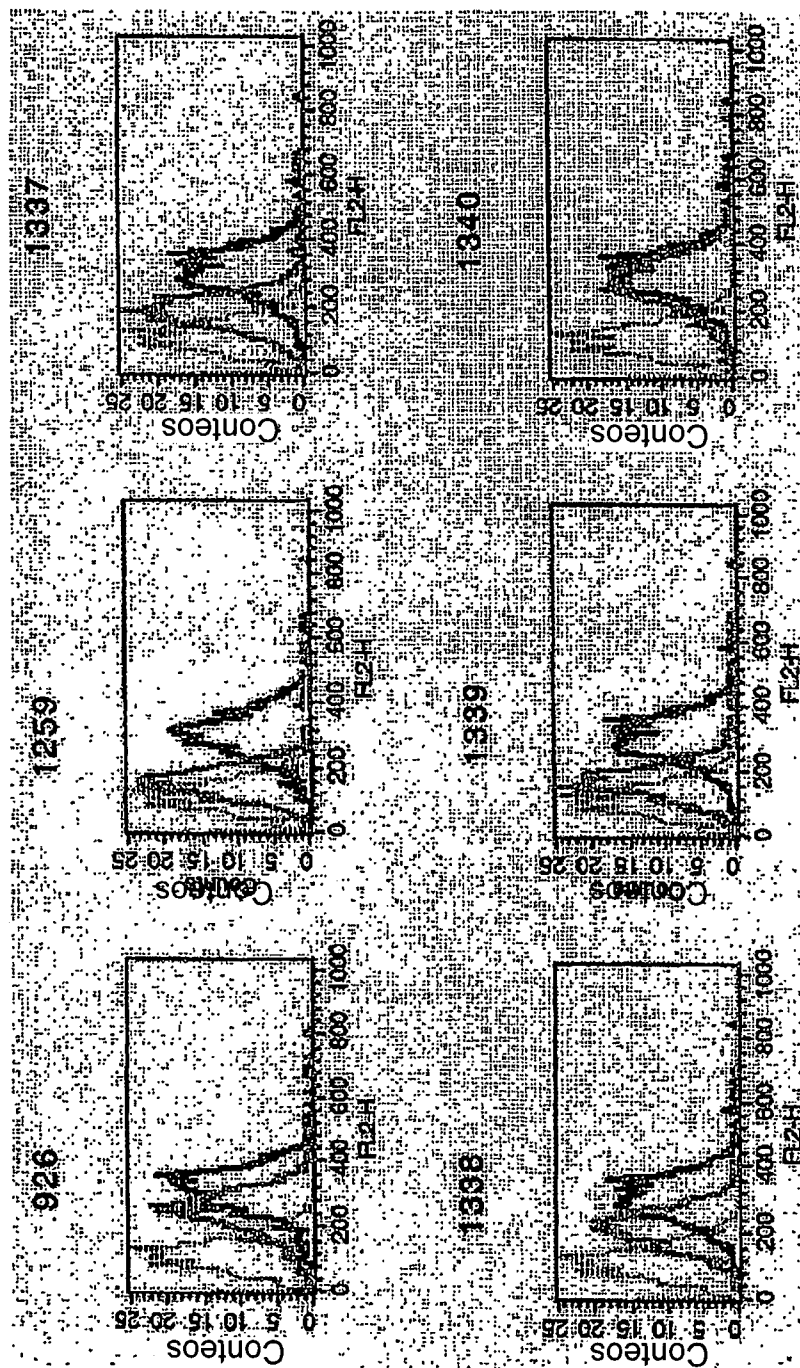


Fig. 6B

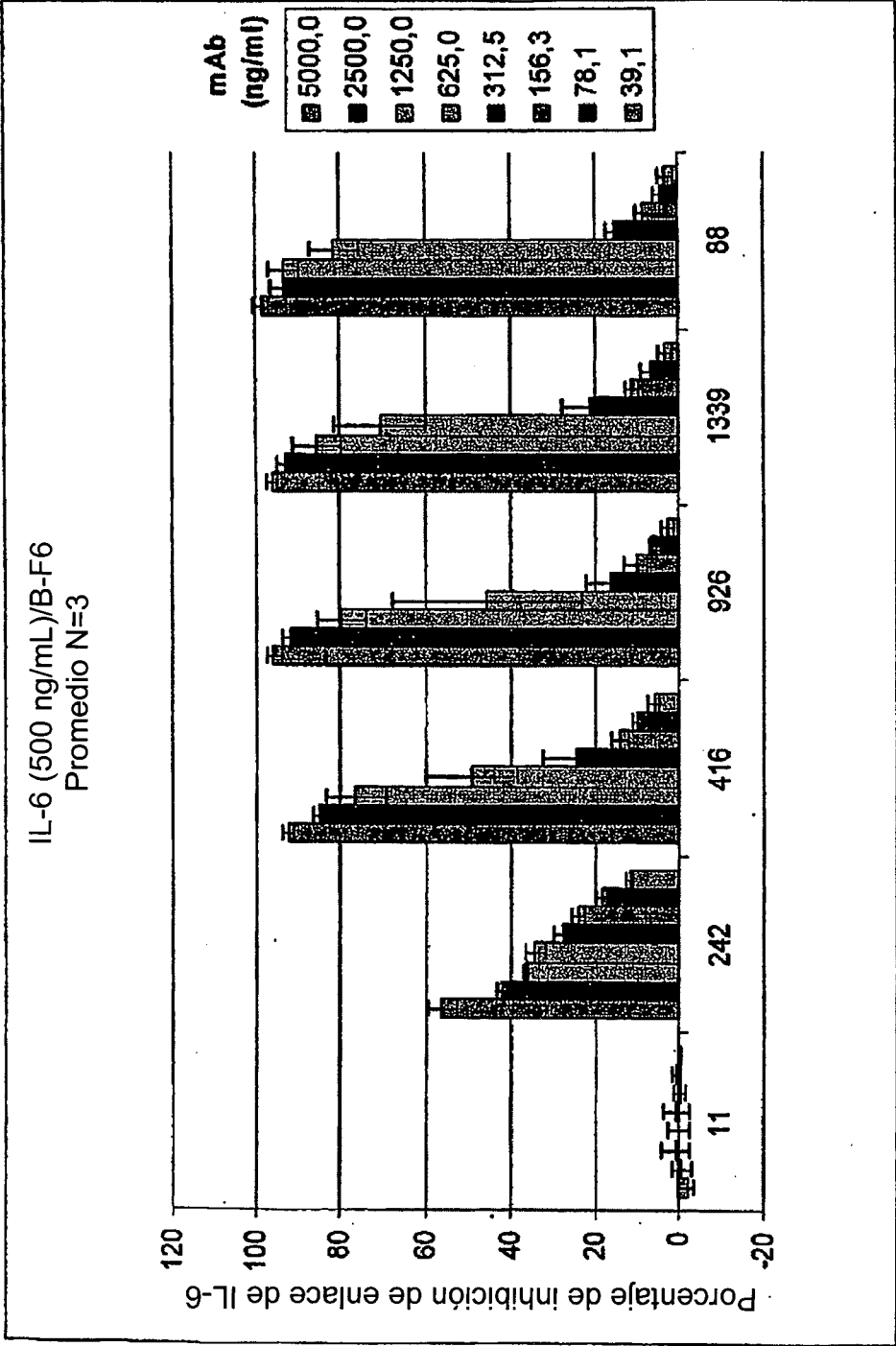
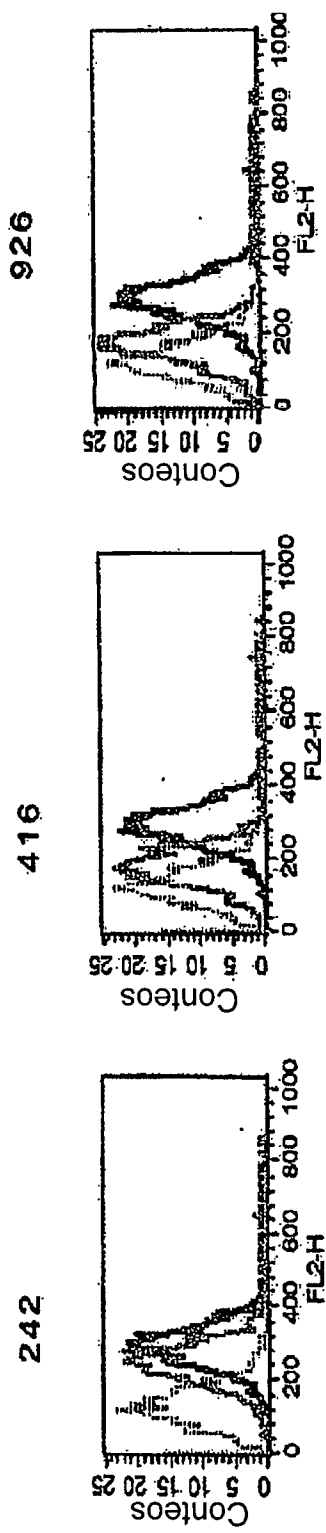


Fig. 7A



9/20

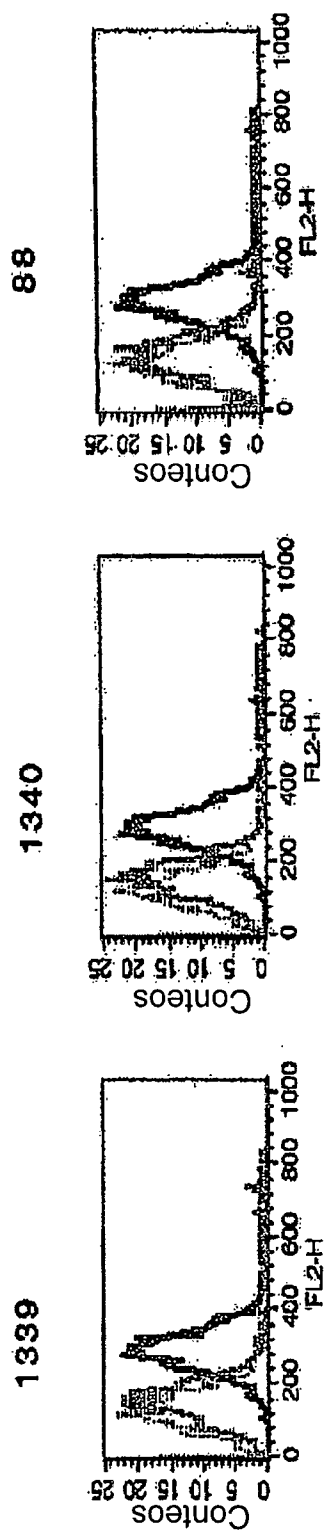


Fig. 7B

Resumen de experimentos de bloqueo con IL-6

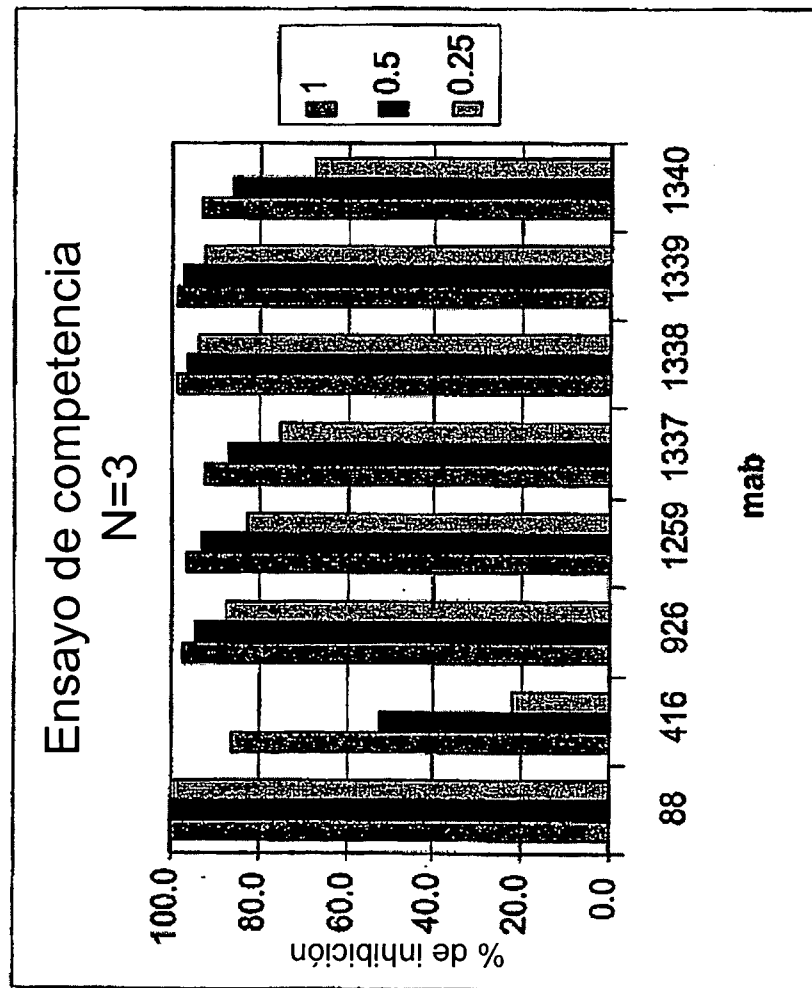


Fig. 8

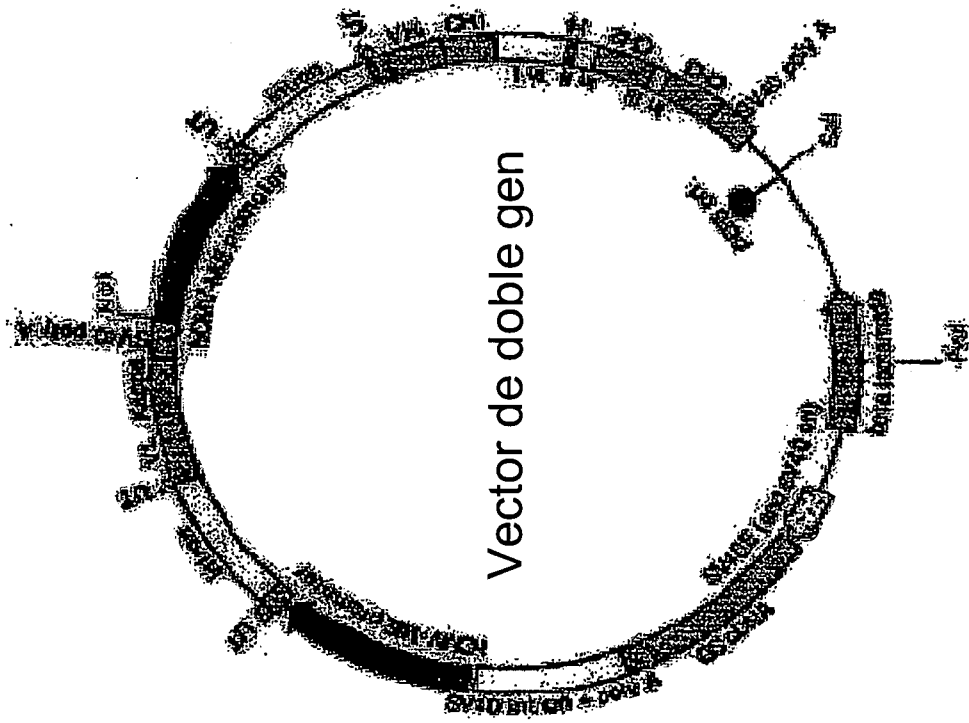


Fig. 9

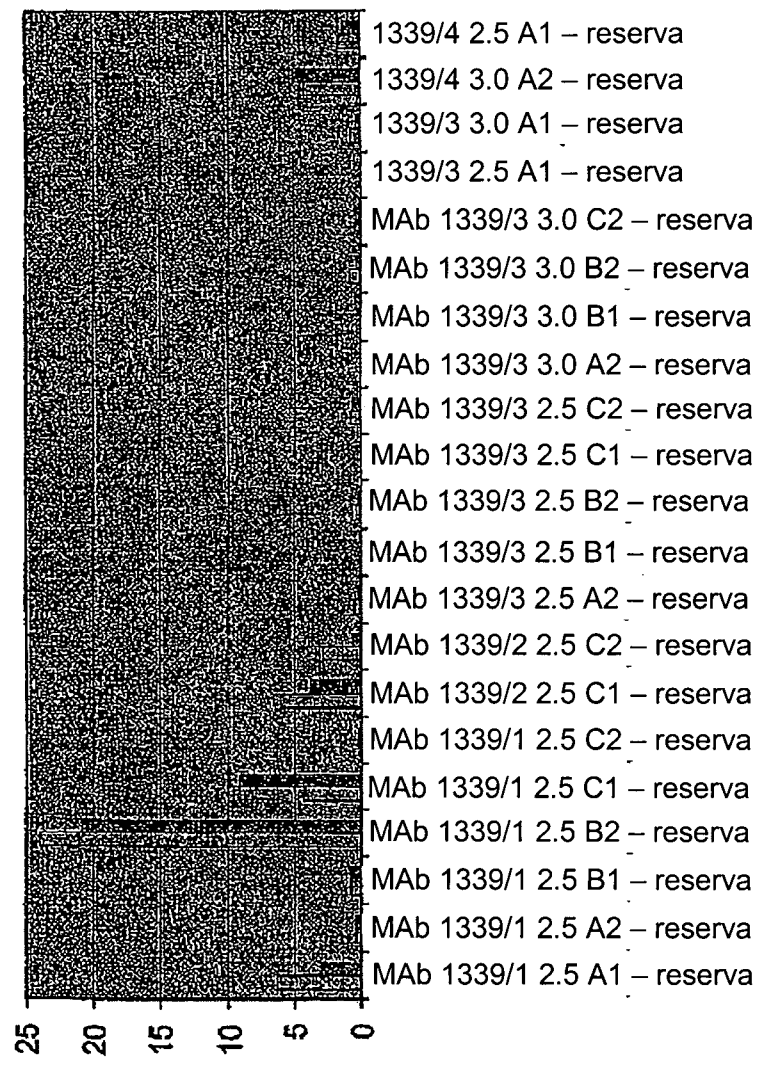
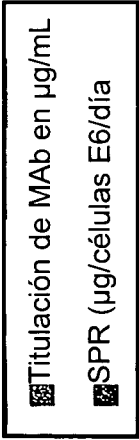


Fig. 10

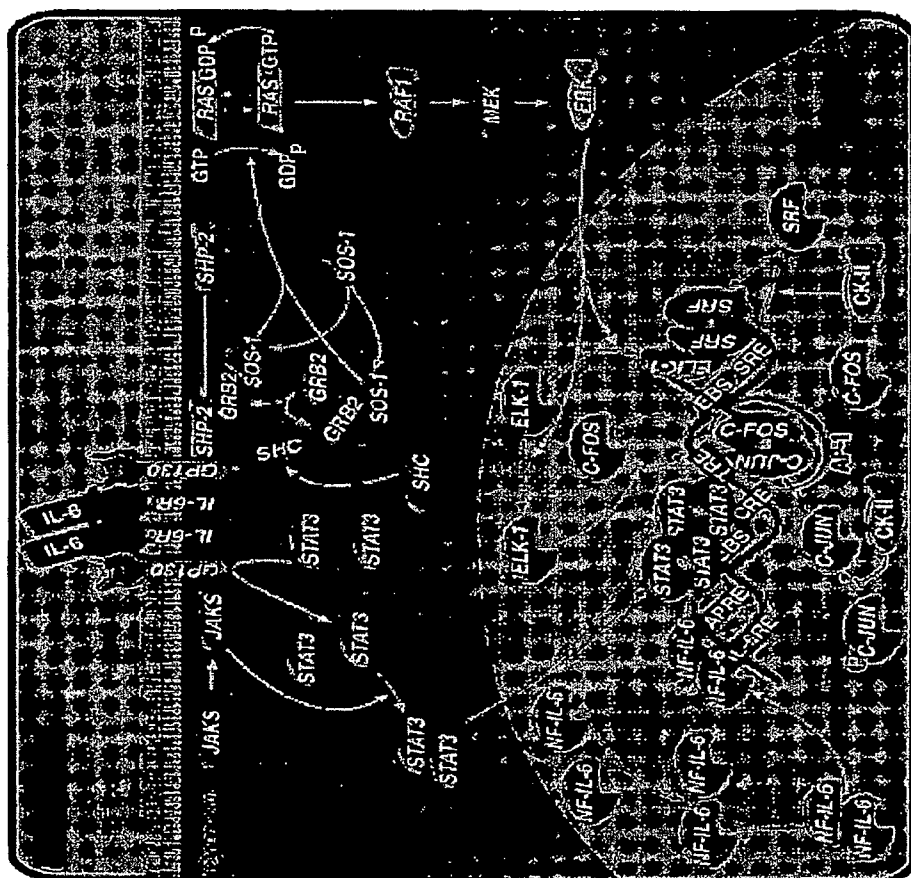


Fig. 11

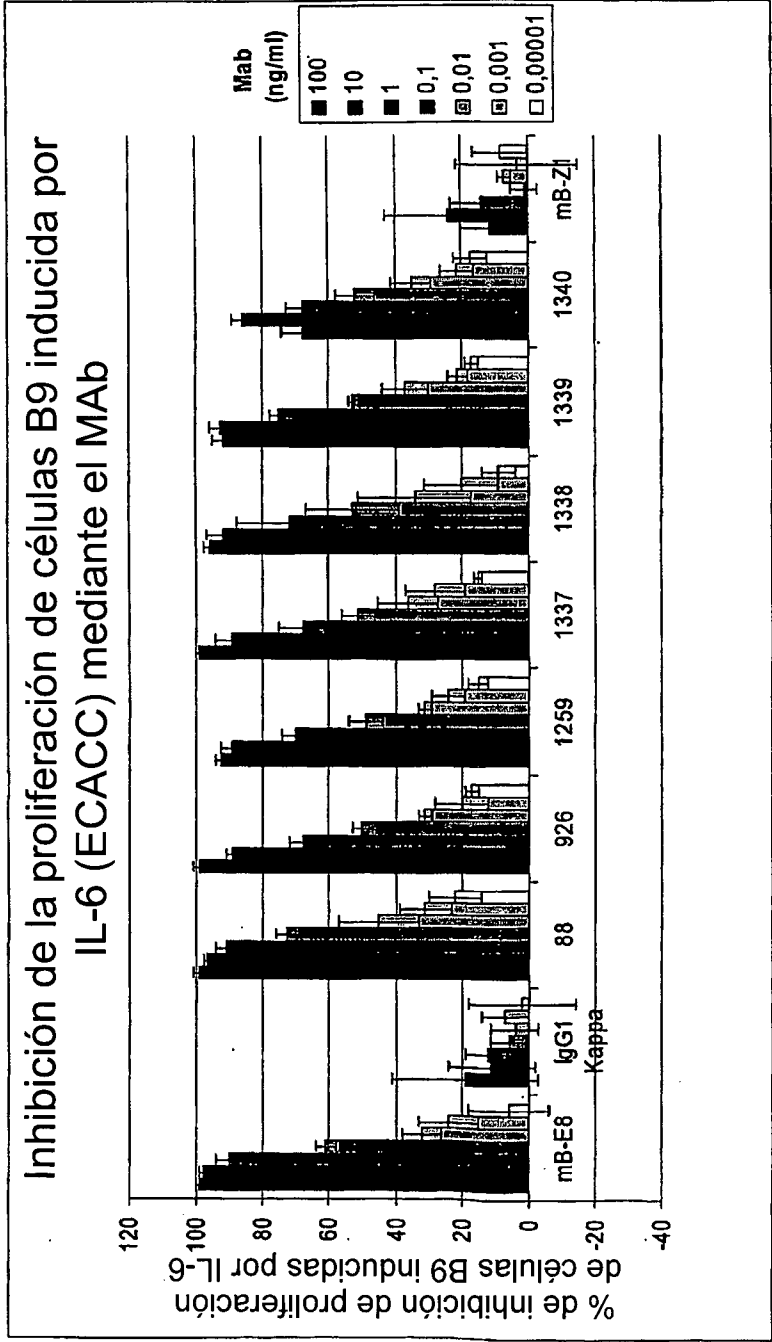


Fig. 12

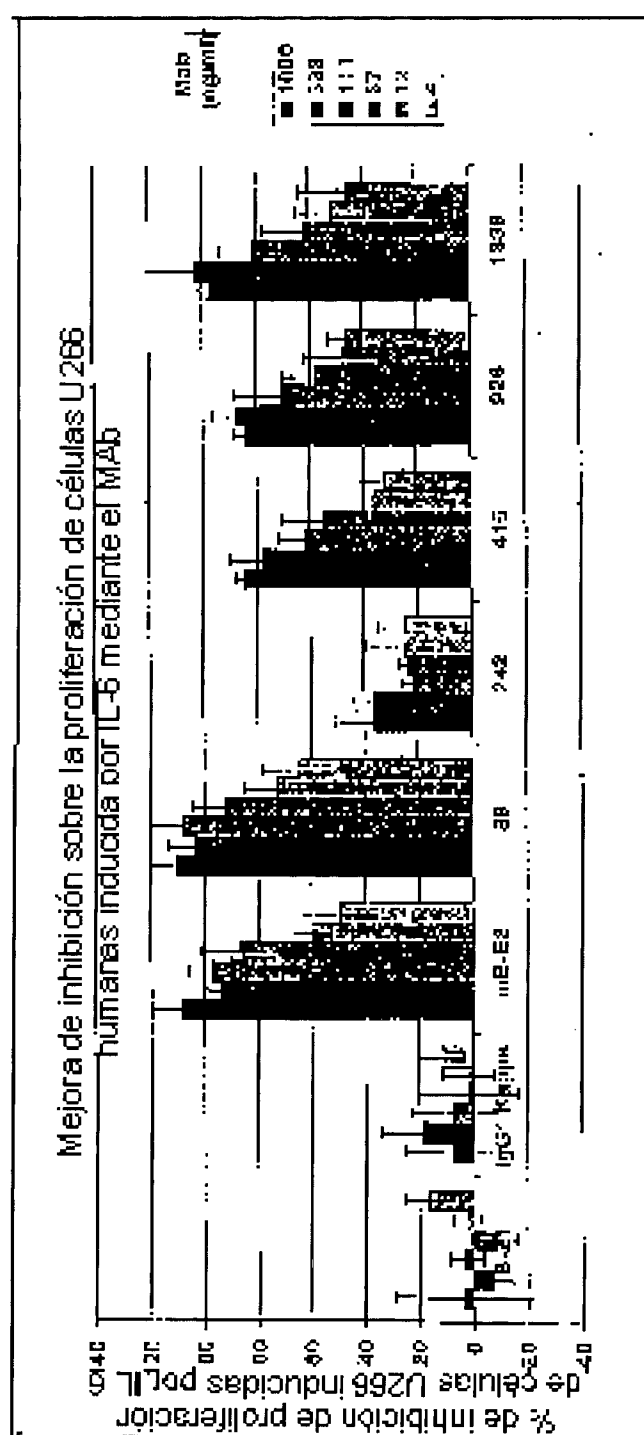


Fig. 13

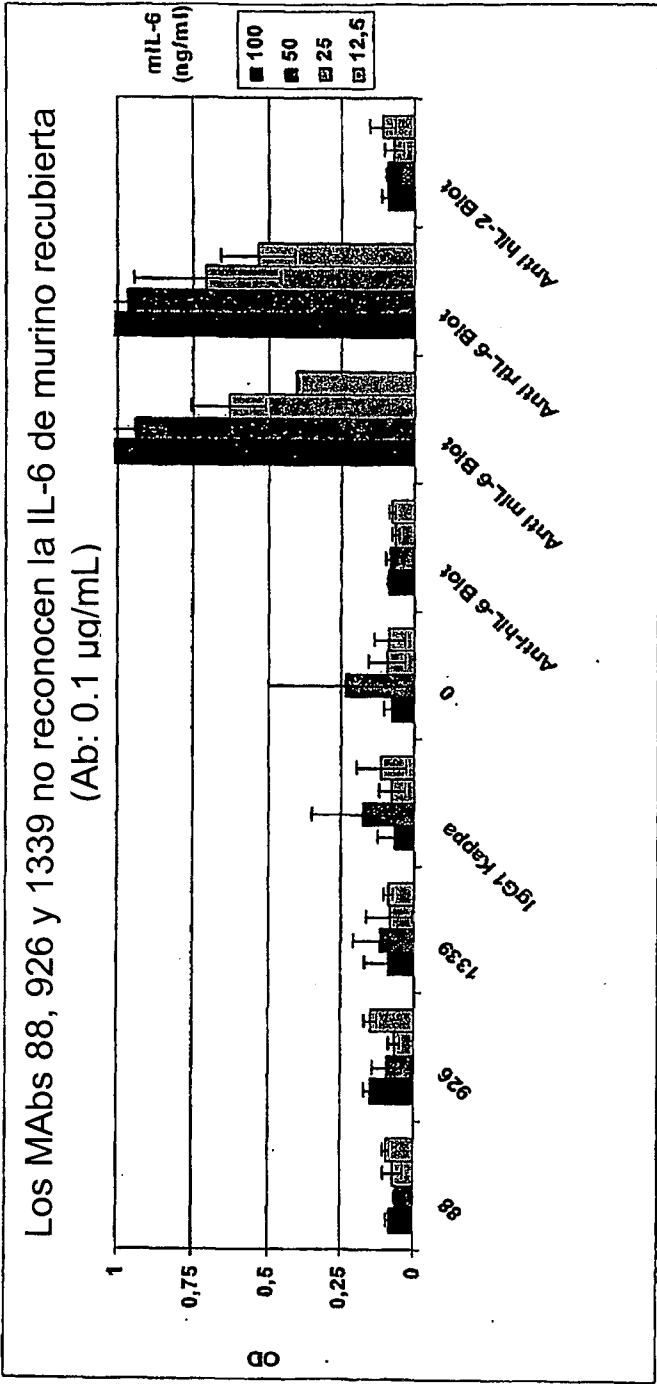


Fig. 14

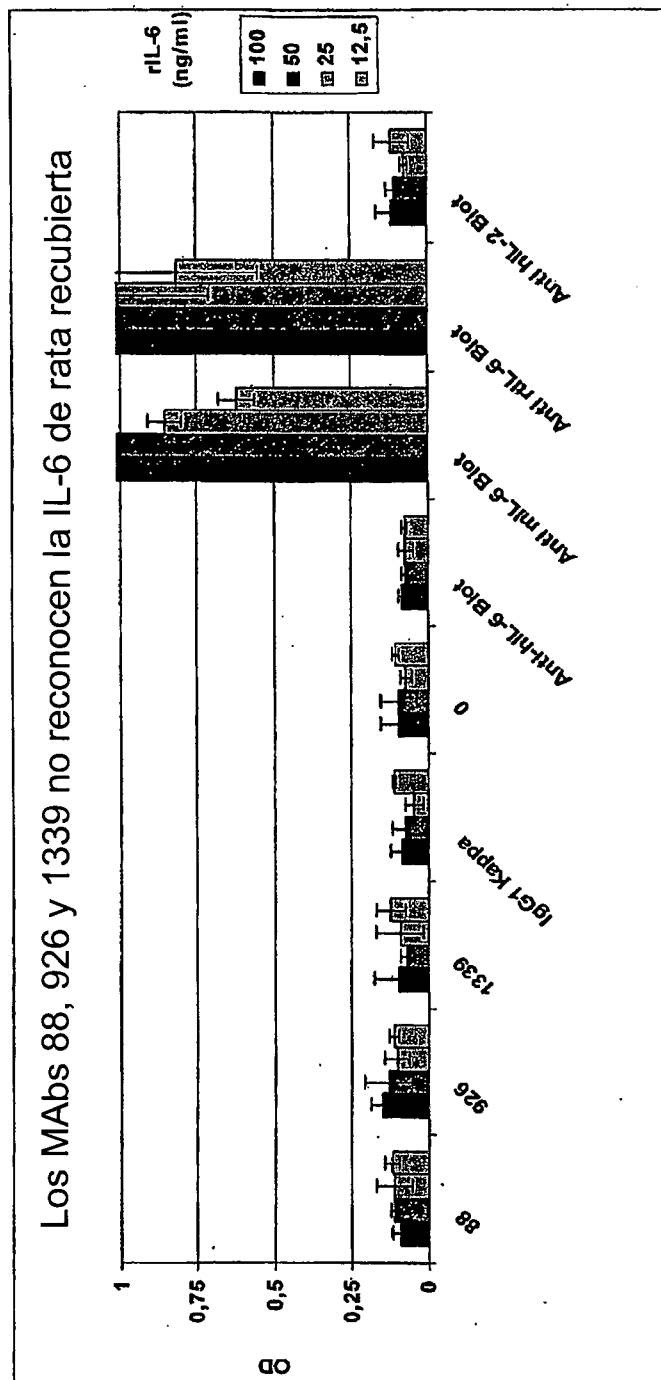


Fig. 15

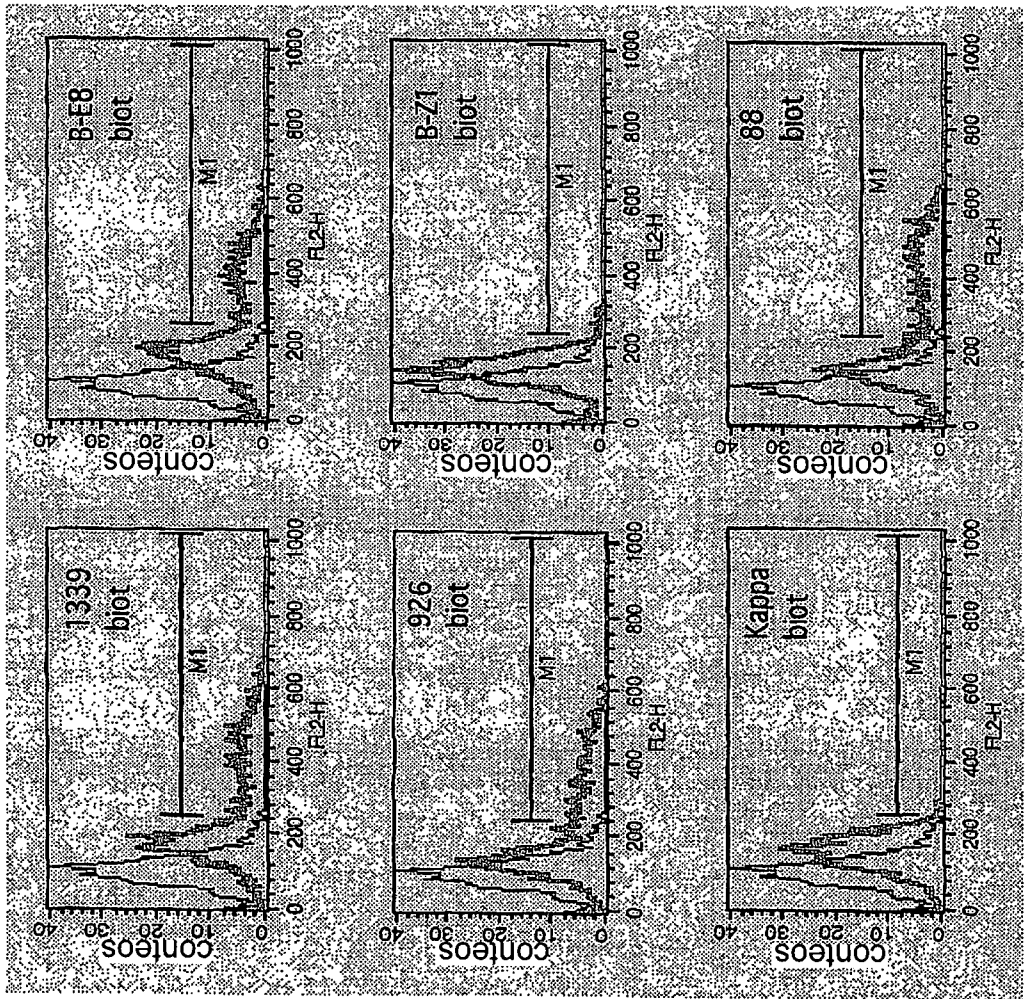


Fig. 16

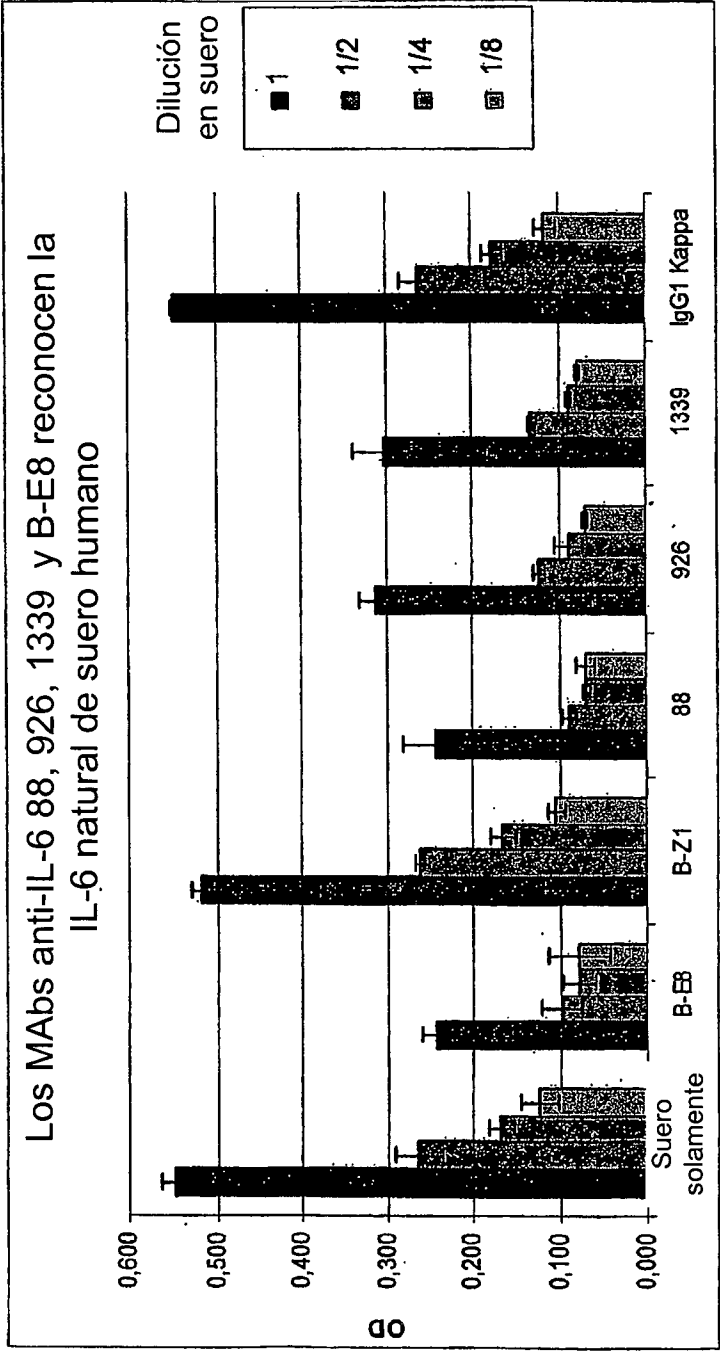


Fig. 17

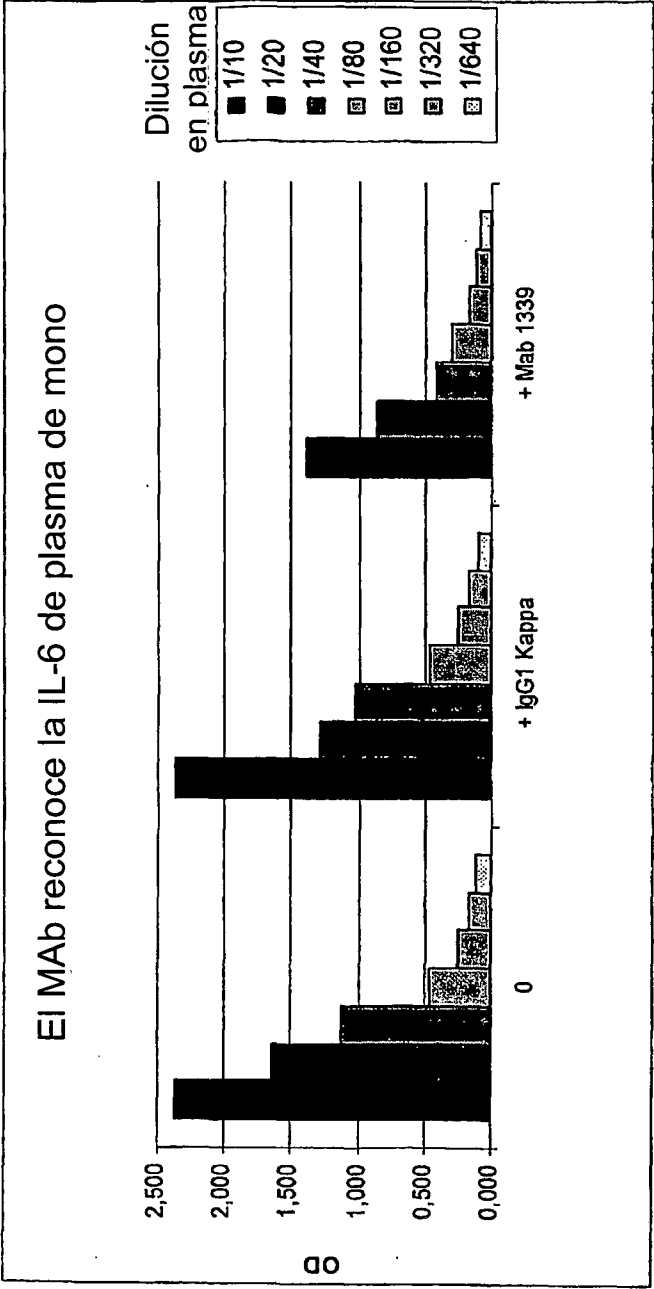


Fig. 18



No. 09-007783- -00000-0000

Fecha: 2009-01-28 16:12:59 Dep. 2020 NUECREACIONE
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 280



ndustria y Comercio
 UPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE

PATENTE DE INVENCION

[]

MODELO DE UTILIDAD

[]

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente X1
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud X1
- ◆ Descripción de la invención X26
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes X261
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas X2

COMPLETA X

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL [X]

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

COMPLETA [X]

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

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

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Claudia M Nova Cortes
 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

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

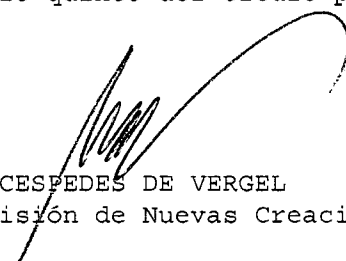
Doctor(a)
LLOREDA RICAURTE ALICIA

REFERENCIA	Radicación No.	9 7783
	Solicitud internacional	PCT/US2007/017337
	Fecha inicio fase nacional	03/03/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	3771

Teniendo en cuenta que el capítulo reivindicatorio presentado excede de quince reivindicaciones, es necesario que cancele la tasa establecida por cada reivindicación adicional presentada, de conformidad con lo dispuesto en la resolución de tasas vigente para la fecha de presentación de la solicitud, so pena de que no sean tenidas en cuenta dentro del presente trámite administrativo.

En consecuencia, con fundamento en lo previsto por el artículo 12 del Código Contencioso Administrativo, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio atienda el requerimiento aquí señalado. Lo anterior, con el alcance que para tal efecto establece el artículo 13 de la misma codificación, respecto de las reivindicaciones adicionales.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


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

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 27 MAR. 2009
jfernand