



No. 09-055632- -00007-0000

Fecha: 2012-12-04 15:49:20 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 122

As. 110.500

Señor

**DIRECTOR DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

E.

S.

D.

REF: Expediente No. **09 055 632** solicitud de patente de invención a favor de
GENENTECH, INC. Título **ANTICUERPOS ANTI-FACTOR D**
HUMANIZADOS.

RESPUESTA A EXAMEN DE FONDO

JUAN PABLO CADENA SARMIENTO, portador de la tarjeta profesional No. 57.492 del C.S.J., obrando como apoderado de la sociedad solicitante me permito dar respuesta al oficio número 13063 relacionado con la patentabilidad de la presente invención y notificado por fijación en lista el 27 de Julio de 2012.

Con el ánimo de subsanar las objeciones planteadas por el señor Examinador, nos permitimos presentar un nuevo pliego reivindicatorio compuesto por doce (12) reivindicaciones, en donde no se amplía en ningún momento la materia inicialmente divulgada, y se encuentra enteramente sustentado en la descripción.

Con respecto a las reivindicaciones 1-5, 21, 22, 29 y 30, las cuales fueron objetadas por no corresponder a una invención o por corresponder a reivindicaciones relativas a un uso o a un segundo uso, ponemos en manifiesto del señor Examinador que éstas han sido eliminadas en el nuevo pliego reivindicatorio con el fin de superar las objeciones pertinentes.

El señor Examinador puede notar que el nuevo pliego reivindicatorio ha sido modificado de manera tal que definen los anticuerpos de la presente invención mediante las 6 regiones determinantes de complementariedad, 3 CDRs de cadena ligera y 3 CDRs de cadena pesada, como mediante las secuencias variables de cadena ligera y cadena pesada.

De esta manera, se reivindican cuatro anticuerpos en las reivindicaciones independientes 1 a 4, caracterizados por sus respectivos 6 CDRs, mientras que las reivindicaciones dependientes 5, 6, 8 y 9 definen las secuencias variables de cadena pesada y de cadena ligera de cada uno de los anticuerpos reivindicados en 1 a 4.

De manera adicional, nos permitimos referir al señor Examinador a la descripción de la presente solicitud, en donde se encuentran ilustrados los anticuerpos reivindicados, de la siguiente manera,

Reivindicación independiente	Reivindicación dependiente	Clon
1	5	#56
2	6	#111
3	8	#250
4	9	#416

De esta manera, los anticuerpos de la presente invención se encuentran adecuadamente caracterizados, y por tanto damos por superadas las objeciones impuestas en este sentido.

A pesar de encontrarnos en desacuerdo con la objeción impuesta sobre las anteriores reivindicaciones 14 y 15, las mismas fueron eliminadas en el nuevo pliego reivindicatorio con el fin de llevar a cabo la consecución de la protección perseguida. Por otra parte, el señor Examinador puede notar que la nueva reivindicación 7 se encuentra revelando,

7. *El anticuerpo anti-factor D o fragmento de unión del mismo de la reivindicación 6, en donde el aminoácido en la posición 104 de **SEQ ID NO:7**, una leucina, es reemplazado por una valina.*

De esta manera, la nueva reivindicación 7, la cual depende la reivindicación 6 y por tanto de la reivindicación 2, se encuentra revelando una secuencia aminoacídica dada, en la cual se especifica puntualmente la modificación en uno de los aminoácidos, y por tanto no debe dar paso a objeciones de claridad.

Ahora bien, las anteriores reivindicaciones 23 a 26 han sido eliminadas en el nuevo pliego reivindicatorio con la finalidad de dar cumplimiento a los requerimientos por su Despacho.

En lo que respecta a la objeción impuesta sobre la anterior reivindicación 28, nos permitimos aclarar al señor Examinador que la nueva reivindicación 11 establece,

11. *Una composición que comprende el anticuerpo anti-Factor D o fragmento de unión del mismo de **cualquiera de las reivindicaciones 1-9** y un vehículo, excipiente o estabilizador farmacéuticamente aceptable.*

Por tanto, la composición se encuentra adecuadamente definida por sus componentes, teniendo en cuenta que el solicitante se encuentra en su derecho de proteger la presente invención de futuras infracciones por parte de terceros, que buscarían hacer uso indiscriminado de la presente invención mediante una ligera modificación en el vehículo o excipientes de la composición en mención. De esta manera, al considerar que las reivindicaciones 1 a 9 definen clara y adecuadamente los anticuerpos mediante sus CDRs y regiones variables, la nueva reivindicación 11 debe considerarse igualmente clara y concisa. Adicionalmente, el señor Examinador puede notar que la nueva reivindicación 12 define la dosis del anticuerpo contenido en la misma.

Con el fin de evitar confusiones, nos permitimos recordarle al señor Examinador que la materia reivindicada debe encontrar entero sustento en la descripción pero no en los ejemplos contenidos en la misma, de esta forma, al considerar que el ingrediente principal de la composición corresponde a un anticuerpo anti-Factor D o fragmento de unión del mismo, como ya fue expuesto anteriormente, el mismo se encuentra correctamente definido y la caracterización del mismo se encuentra completamente soportada en la descripción. Por tanto la composición cuenta con todo el sustento requerido, con base en el artículo 30 de la Decisión 486.

Por demás, las reivindicaciones 35 a 37 han sido eliminadas del pliego reivindicatorio, superándose así las objeciones consignadas en el Oficio Técnico objeto de la presente respuesta.

Así las cosas, consideramos que el alcance de las nuevas reivindicaciones se encuentra debidamente sustentado en la totalidad de las enseñanzas de la descripción y más aun teniendo en cuenta que los ejemplos son plenamente ilustrativos de la invención pero de ninguna manera se deben considerar como limitativos de la materia reivindicada, por la cual solicitamos respetuosamente aceptar el nuevo pliego reivindicatorio como claro y conciso.

Descripción

De conformidad con la solicitud del señor Examinador, nos permitimos anexar el listado de secuencias objeto de la presente invención en formato digital.

Nivel inventivo

Al tener en cuenta que el nuevo capítulo reivindicatorio se compone por cuatro reivindicaciones independientes, reivindicaciones 1 a 4 el Examen de Patentabilidad debe hacerse sobre dichas reivindicaciones.

4

Ahora bien, el señor Examinador establece que el problema técnico objetivo que pretende resolver la presente invención se formula de la siguiente manera,

"Como modificar el anticuerpo anti Factor D 166-32 conocido en D1 para reducir su inmunogenicidad y aumentar su afinidad al Factor D humano"

asegurando que el documento D2 brinda la sugerencia para hacer tal modificación y así llegar a la presente invención.

Al respecto nos permitimos mostrar nuestro total desacuerdo, al considerar que la referencia **D1 (US2002/0081293)** revela un anticuerpo anti-Factor D murino, mientras que por su parte la referencia citada **D2 (US2003/0129187)** reivindica un anticuerpo anti-C5/C5a.

El señor Examinador establece además lo siguiente,

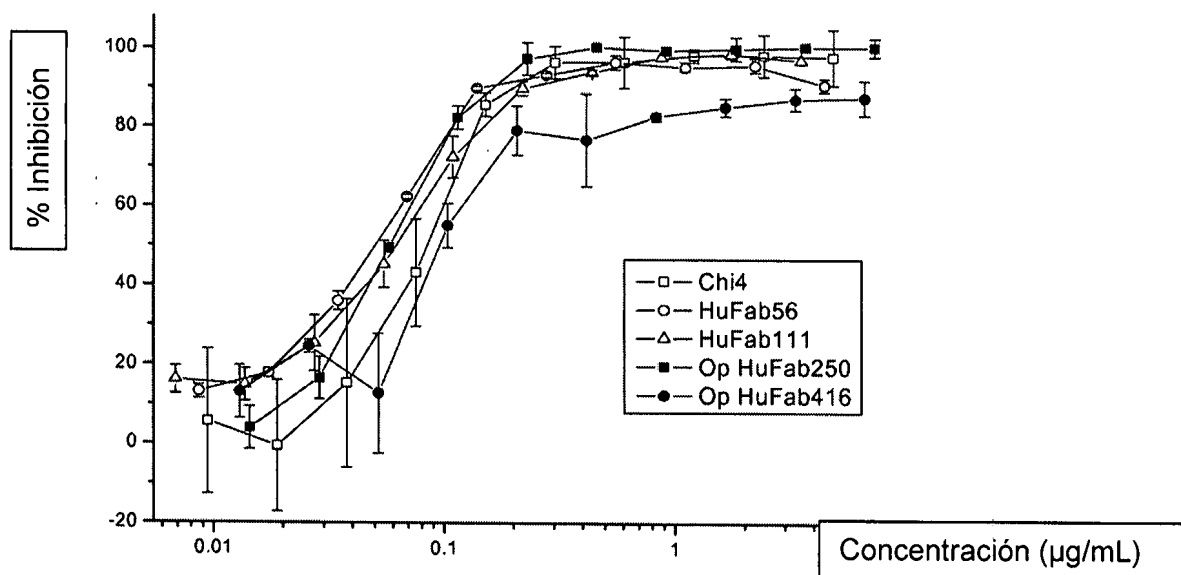
"Sin embargo, el documento D2 enseña que la humanización de anticuerpos es importante en la reducción de la antigenicidad, que los CDRs son los residuos que más influyen la afinidad con el antígeno, y que los residuos de las porciones más conservadas de los dominios variables o PF pueden ser seleccionadas o combinadas de las secuencias del aceptor y de importación para aumentar la afinidad por el antígeno".

Lo anterior corresponde con materia altamente conocida en el estado del arte, que se refiere de manera genérica a los aspectos relacionados con la humanización de anticuerpos, pero que de ninguna manera establece que corresponda a un proceso aplicable a todos los anticuerpos, y menos aún sugiere la modificación del anticuerpo 166-32 de la referencia D1 para la obtención de anticuerpos anti-Factor D con los efectos inesperados que presenta la presente invención.

Así las cosas, nos permitimos aclarar al señor Examinador, que contrario a lo afirmado a lo largo del Oficio Técnico, los anticuerpos de la presente invención presentan un efecto técnico inesperado. De esta manera, la descripción establece que los clones #56 y #111 presentan una mayor potencia, en comparación con la versión quimérica del anticuerpo mAb 166-32, al ser evaluados en un ensayo de inhibición hemolítica.

Lo anterior se evidencia en el ejemplo 4 de la descripción, en donde se establece que mediante análisis BIAcore se demostró que los clones #56 y #111 en el análisis de inhibición hemolítica mostraron ser más potentes que el Fab 166-32 quimérico, lo cual se evidencia además en la figura 6 ilustrada continuación:

Figura 6: Anti-FD HuFabs optimizados inhiben hemolisis AP



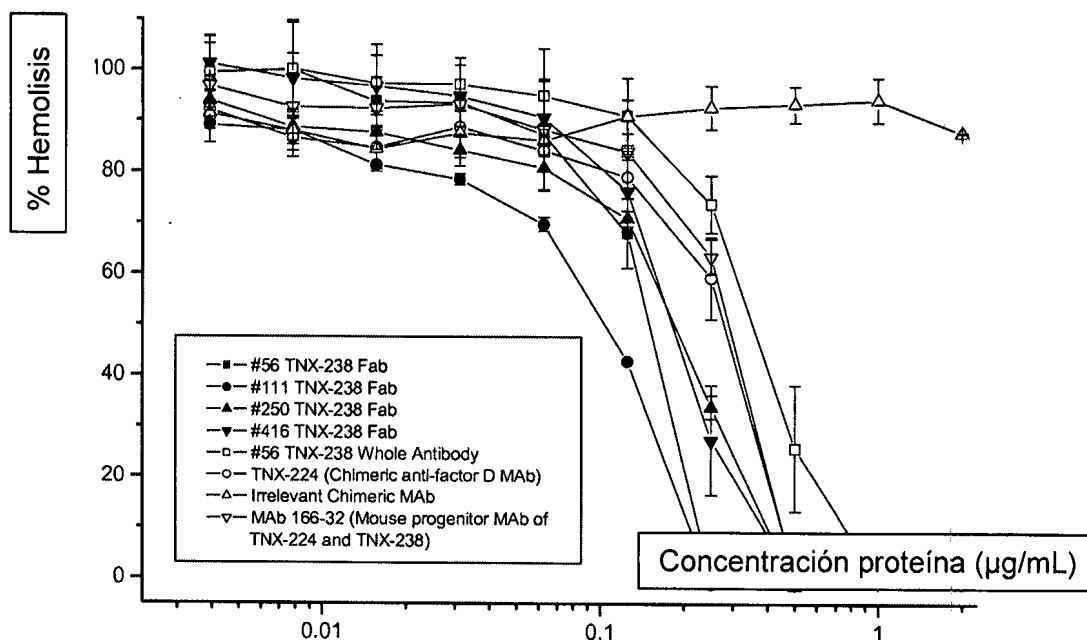
Posteriormente, la descripción establece lo siguiente,

"Para optimizar aún más la afinidad del clon #111, se construyó una biblioteca de anticuerpos introduciendo mutaciones individuales en las CDR-H1 y CDR-L2 simultáneamente. En síntesis, se empleó la metodología de mutagénesis dirigida al sitio para construir tales bibliotecas apareando oligonucleótidos que codifican mutaciones individuales a la plantilla del clon #111".

De esta manera se obtuvieron, entre otros, los clones #250 y #416, los cuales demostraron presentar una mayor afinidad al Factor D en comparación con el clon #111.

Ahora bien, con el fin de ilustrar aún mejor el nivel inventivo de la materia reivindicada, se realizó el ensayo de actividad de la vía de complemento alternativa en suero humano, resumiéndose dichos resultados en la figura 7, en donde se encontró que los cuatro fragmentos Fab objeto del ensayo, correspondientes a los fragmentos Fab derivados de los clones #56, #111, #250 y #416, mostraron una actividad inhibitoria mejorada a bajas concentraciones de proteína en comparación con el anticuerpo murino mAb 166-32.

Figura 7: Inhibición de la actividad de complemento alternativa de suero humano por diferentes constructos Fab humanizados TNX-238 en análisis hemolítico.



De esta manera, el señor Examinador puede notar que los anticuerpos de la presente invención, presentan efectos sorprendentes, y no esperados, a la luz del arte previo, en donde la generación de dichos efectos no se encuentra de ninguna manera sugerida por ninguna de las referencias D1 y D2.

Así las cosas, se ha demostrado que el inventor requirió de la aplicación de otras técnicas, tal como es el caso de los clones #250 y #416 que fueron producidos mediante la metodología de mutagénesis dirigida al sitio para construir bibliotecas apareando oligonucleótidos que codifican mutaciones individuales a la plantilla del clon #111, lo cual tampoco se encontraba sugerido por las referencias en mención.

Por tanto, la invención revelada en el nuevo pliego reivindicatorio cuenta con nivel inventivo, pues ningún versado en la materia esperaría obtener los efectos técnicos sorprendentes encontrados por el inventor de la presente invención a partir de la aplicación de las enseñanzas generales de la referencia D2, y menos aún encontraría motivación para la aplicación de mutaciones puntuales sobre uno de los clones obtenidos para obtener anticuerpos con mayor afinidad al Factor D.

Adicionalmente nos permitimos informar al señor Examinador que procedemos con la presentación de una solicitud divisional, en la cual se presenta un pliego reivindicatorio compuesto por 32 reivindicaciones, para que sea objeto de estudio de su Oficina.

En vista de lo anteriormente expuesto, respetuosamente solicitamos el retiro de las objeciones de la presente solicitud y la concesión del privilegio solicitado, ya que en opinión del solicitante cumple con todos los requisitos establecidos en la decisión 486.

Anexos

Nuevo pliego reivindicatorio.

Del Señor Director



JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

T.P. No. 57.492 del C.S.J.

C.C. 80.410.337 de Usaquén

Calle 70 A No. 4 - 41

8

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo anti-Factor D o un fragmento de unión del mismo, que comprende una cadena ligera variable que comprende una CDR-L1 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:16, una CDR-L2 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:17, y una CDR-L3 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:18; y una cadena pesada variable que comprende una CDR-H1 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:13, una CDR-H2 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:14, y una CDR-H3 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:15, en donde (i) la cadena ligera variable no comprende la secuencia de SEQ ID NO:2, o (ii) la cadena pesada variable no comprende la secuencia de SEQ ID NO:1.
2. Un anticuerpo anti-Factor D o un fragmento de unión del mismo, que comprende una cadena ligera variable que comprende una CDR-L1 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:16, una CDR-L2 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:17, y una CDR-L3 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:19; y una cadena pesada variable que comprende una CDR-H1 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:13, una CDR-H2 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:14, y una CDR-H3 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:20.
3. Un anticuerpo anti-Factor D o un fragmento de unión del mismo, en donde el anticuerpo comprende una cadena ligera variable que comprende una CDR-L1 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:16, una CDR-L2 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:21, y una CDR-L3 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:22; y una cadena pesada variable que comprende una CDR-H1 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:23, una CDR-H2 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:14, y una CDR-H3 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:20.
4. Un anticuerpo anti-Factor D o un fragmento de unión del mismo, que comprende una cadena ligera variable que comprende una CDR-L1 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:16, una CDR-L2 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:24, y una CDR-L3 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:22; y una cadena pesada variable que comprende una CDR-H1 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:25, una CDR-H2 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:14, y una CDR-H3 que presenta la secuencia de SEQ ID NO:20.
5. El anticuerpo anti-factor D o fragmento de unión del mismo de la reivindicación 1, que comprende la secuencia de dominio variable de SEQ ID NO:5 y la secuencia de dominio variable de SEQ ID NO:6.

6. El anticuerpo anti-factor D o fragmento de unión del mismo de la reivindicación 2, que comprende la secuencia de dominio variable de SEQ ID NO:7 y la secuencia de dominio variable de SEQ ID NO:8.
7. El anticuerpo anti-factor D o fragmento de unión del mismo de la reivindicación 6, en donde el aminoácido en la posición 104 de SEQ ID NO:7, (leucina), es reemplazado por valina.
8. El anticuerpo anti-factor D o fragmento de unión del mismo de la reivindicación 3, que comprende la secuencia de dominio variable de SEQ ID NO:9 y la secuencia de dominio variable de SEQ ID NO:10.
9. El anticuerpo anti-factor D o fragmento de unión del mismo de la reivindicación 4, que comprende la secuencia de dominio variable de SEQ ID NO:11 y la secuencia de dominio variable de SEQ ID NO:12
10. El anticuerpo anti-factor D o fragmento de unión del mismo de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, el cual es humanizado.
11. Una composición que comprende el anticuerpo anti-Factor D o fragmento de unión del mismo de cualquiera de las reivindicaciones 1-9 y un vehículo, excipiente o estabilizador farmacéuticamente aceptable.
12. La composición de la reivindicación 11, en donde el anticuerpo anti-Factor D o fragmento de unión del mismo está en una cantidad de dosificación de 0.5 µg a alrededor de 50 µg por kilogramo de peso corporal.

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	Espacio reservado para el adhesivo de radicación
---	--

AS. 122.977

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
CONVERSIÓN, DIVISIÓN Y FUSIÓN DE SOLICITUDES

1. Identificación del Trámite
☐ Conversión ☒ División ☐ Fusión
☒ Patente de Invención
☐ Patente de Modelo de Utilidad
☐ Registro de Diseño Industrial
☐ Esquema de Trazado de Circuitos Integrados

2. Datos del solicitante												
Persona Natural ☐ Persona Jurídica ☒												
<u>GENENTECH, INC.</u> Nombre o denominación / Nombre o razón social												
Nombre representante legal												
Tipo de empresa Micro ☐ Pequeña ☐ Mediana ☐ Otra ☒												
Documento de identificación: ☐ C.C. ☐ C.E. ☐ NIT ☐ Otro Número _____												
<table><tr><td>Nacionalidad/País de constitución</td><td>Dirección y domicilio del titular</td><td>Ciudad</td></tr><tr><td>Estados Unidos de América</td><td>1 DNA Way, CA 94080</td><td>South San Francisco</td></tr><tr><td>Dirección electrónica</td><td>No. Fax</td><td>Número telefónico</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table>	Nacionalidad/País de constitución	Dirección y domicilio del titular	Ciudad	Estados Unidos de América	1 DNA Way, CA 94080	South San Francisco	Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico			
Nacionalidad/País de constitución	Dirección y domicilio del titular	Ciudad										
Estados Unidos de América	1 DNA Way, CA 94080	South San Francisco										
Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico										

☒ Autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico

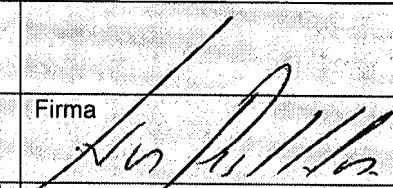
3. Datos del apoderado:												
<table><tr><td>CADENA SARMIENTO JUAN PABLO</td><td>80.410.337</td><td>57492</td></tr><tr><td>Apellidos y Nombre</td><td>Documento de identificación</td><td>Tarjeta profesional</td></tr></table>	CADENA SARMIENTO JUAN PABLO	80.410.337	57492	Apellidos y Nombre	Documento de identificación	Tarjeta profesional						
CADENA SARMIENTO JUAN PABLO	80.410.337	57492										
Apellidos y Nombre	Documento de identificación	Tarjeta profesional										
<table><tr><td>Dirección y domicilio</td><td>Ciudad</td></tr><tr><td>Calle 70 A #4-41</td><td>Bogotá, D.C.</td></tr><tr><td>Dirección electrónica</td><td>No. Fax</td></tr><tr><td></td><td>742-2200</td></tr><tr><td></td><td>Número telefónico</td></tr><tr><td></td><td>744-2200</td></tr></table>	Dirección y domicilio	Ciudad	Calle 70 A #4-41	Bogotá, D.C.	Dirección electrónica	No. Fax		742-2200		Número telefónico		744-2200
Dirección y domicilio	Ciudad											
Calle 70 A #4-41	Bogotá, D.C.											
Dirección electrónica	No. Fax											
	742-2200											
	Número telefónico											
	744-2200											
En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de su radicación o protocolo de poder general _____												

21

4. Datos del trámite		
CONVERSIÓN	DIVISIÓN	FUSIÓN
Expediente:	Expediente: 09 055.632	Expediente:
De:	De:	De:
A:	A:	A:

5. Anexos
Comprobante de pago No. 12-119706; 12-123765 Fecha: 30.11.2012

6. Anexos
☒ Comprobante de pago de la tasa para la presentación de la corrección y/o modificación.
☒ Poder, si fuere el caso con el que se acredita la representación.
☐ Número de documento que ordena la comisión o fusión o división.
☐ Documento que contiene la conversión, división o fusión de la solicitud.
☒ Copia de la solicitud y sus anexos en formato magnético.

7. Firma	
Nombre y apellidos	Firma
JUAN PABLO CADENA SARMIENTO	
C.C 80.410.337	Tarjeta Profesional 57492

122977 73
12

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 12 - 119706			
		Bogotá D.C., Noviembre 19 de 2012 - 14:04:23			
RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A.		NI 860.047.372			
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	446248460	19/11/2012	68.178.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT. RENTISTICO	CONCEPTO			Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
50005-01-01 SOLICITUDES	7 TRAMITES DE SOL. DE DISENOS INDUSTRIALES			590.000.00	590.000.00
					\$590.000.00
=====					
SON: **QUINIENTOS NOVENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***					

Responsable: _____
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 09-055632- -00007-0000
Fecha: 2012-12-04 15:49:20 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 122

12297-13

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO NIT : 800.176.089-2 -/-					
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA			No. 12 - 123765	
				Bogotá D.C., Noviembre 29 de 2012 - 13:41:20	
RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A.				NI 860.047.372	
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	446245004	29/11/2012	630.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr UNIDITARIO	Vr CONCEPTO	
21 50005-01-01	SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INICIALES	30.000.00	630.000.00	
				\$630.000.00	
=====					
SON: **SEISCIENTOS TREINTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**					
Responsable: 			SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO		
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
			No. 09-055632- -00007-0000		
			Fecha: 2012-12-04 15:49:20 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR		
			Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI		
			Act. 523 RESPUESTA Folios: 122		
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia					
Web: www.sic.gov.co e-mal: Info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240					
, Noviembre 29 do 2012 - 13:41:20					

14

Brigard & Castro
BOGOTÁ - COLOMBIA

PODER

Yo (nosotros):

domiciliado(s) en:

Nombramos a: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO y/o BEATRIZ JARAMILLO y/o CARLOS H. PALACIO EASTMAN y/o HECTOR GOMEZ MEJIA**, de Bogotá, Colombia, apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente, para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, registros de marcas, diseños industriales, modelos de utilidad, depósitos de nombres comerciales y enseñanzas, registros de derechos de autor y contratos sobre los mismos, obtención de certificados de obtentor de variedades vegetales, así como sus prórrogas, renovaciones, anotaciones de traspaso, cambios de nombre y/o domicilio, elaborar, tramitar y registrar contratos de licencia y licencias de cualesquiera clases, intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso ante cualquier juez, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía tales como: oposiciones, al registro de marcas, acciones de caducidad, cancelación y nulidad, acciones reivindicatorias, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de competencia desleal, demandas penales, acciones de indemnización de perjuicios, reclamos y observaciones a solicitudes de patentes, diseños industriales, modelos de utilidad, en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones o medidas similares.

A este efecto, lo(s) faculto(amos) para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, nulidades, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores, dando el descargo respectivo, y, en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de mis (nuestros) intereses; con todas las demás facultades legales necesarias.

Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado así como la facultad de desistir, transigir, comprometer, y la de sustituir en todo o en parte y revocar sustituciones. Asimismo nombro(amos) a: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO y/o BEATRIZ JARAMILLO y/o CARLOS H. PALACIO EASTMAN y/o HECTOR GOMEZ MEJIA**, domiciliado(s) en la Carrera 7 No. 16-56 Piso 9, mis (nuestros) apoderados en Colombia, con facultades para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Otorgado y firmado en:

hoy de de 200

Firma

Nombre:
Cargo:

POWER OF ATTORNEY

I (We)

Genentech, Inc.

1 DNA Way

domiciled in **South San Francisco, California 94080-4990 USA**

Hereby appoints **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO and/or BEATRIZ JARAMILLO and/or CARLOS H. PALACIO EASTMAN and/or HECTOR GOMEZ MEJIA**, of Bogotá, Colombia, my (our) true and lawful attorneys with special, ample and sufficient power to obtain from the Colombian administrative, judicial and police offices and authorities, in any instance, privileges of patents of invention, registration of trademarks, industrial designs and utility models; registration of commercial names and emblems, registration of copyright and contracts related thereto, certificates of obtainers of vegetables varieties, as well as extensions, renewals and recordal of assignments and changes of name and domicile related to the above; to prepare, prosecute and register licenses of any kind; to act as plaintiff or defendant in any instance or recourse, and before any judge, corporation, public official or authority in judicial, administrative and police actions, such as: oppositions to the registration of trademarks; caducity, cancellation and nullity actions; claim actions derived from the obtaining or exploitation of licenses; action of unfair competition; criminal proceedings; actions for payment of damages; claims or observations on patent applications, models, industrial designs and utility models; in the exercise of preventive measures and in other actions or similar proceedings.

To that effect they hereby empowered to file applications, formulate descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, nullities, appeals and claims; to pay taxes, quotas and assessments prescribed by law; renounce or waive the rights granted or in the process of granting; to receive all kinds of documents and valuables, giving the respective release of receipt; and, in general, to take before said authorities the necessary steps to such effect, and any measures that they may deem pertinent to the safeguard of my (our) interest(s) with all the other necessary legal powers.

This power includes the faculty to ratify or confirm, desist, settle and compromise on my (our) behalf, and to substitute this power in whole or in part and to revoke substitutions. At the same time I (We) hereby appoints **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO and/or BEATRIZ JARAMILLO and/or CARLOS H. PALACIO EASTMAN and/or HECTOR GOMEZ MEJIA**, domiciled in Carrera 7 No. 16-56, Piso 9, my (our) attorney(s) in fact, with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys.

South San Francisco, California

Granted and signed in **USA**

this 6th day of December 2005

Signature

Name **Timothy R. Schwartz, Ph.D.**
Title **Section Patent Counsel**
Authorized Corporate Signatory
Genentech, Inc.

ANTICUERPOS ANTI-FACTOR D HUMANIZADOS

Arte Previo de la Invención

[0001] El sistema de complemento juega un papel central en la depuración de complejos inmunitarios y la respuesta inmunitaria a agentes infecciosos, antígenos externos, células infectadas con virus y células neoplásicas. No obstante, el complemento se encuentra también implicado en la inflamación patológica y en las enfermedades autoinmunitarias. Por consiguiente, la inhibición de la activación excesiva o incontrolada de la cascada del complemento podría aportar un beneficio clínico a pacientes con tales enfermedades y afecciones.

[0002] El sistema de complemento comprende dos vías distintas de activación, denominadas las vías clásica y alternativa (V.M. Holers, In *Clinical Immunology: Principles and Practice*, ed. R.R. Rich, Mosby Press; 1996, 363-391). La vía clásica es una cascada dependiente de calcio/magnesio, la cual se activa normalmente por la formación de complejos antígeno-anticuerpo. La vía alternativa es una cascada dependiente de magnesio, que se activa por la deposición y activación de C3 en ciertas superficies susceptibles (por ejemplo, polisacáridos de la pared celular de levadura y bacterias, y ciertos materiales biopoliméricos). La activación de la vía del complemento genera fragmentos biológicamente activos de proteínas de complemento, por ejemplo C3a, C4a y C5a anafilatoxinas y complejos de ataque de membrana C5b-9 (MAC – *membrane attack complexes*), que median actividades inflamatorias, las cuales involucran quimiotaxis leucocitaria, activación de macrófagos, neutrófilos, plaquetas, mastocitos y células endoteliales, permeabilidad vascular, citólisis y lesión tisular.

[0003] El Factor D es una serina proteasa altamente específica, esencial para la activación de la vía de complemento alternativa. Segmenta el factor B ligado a C3b, generando la enzima C3b/Bb, la cual es el componente activo de las C3/C5 convertasas de la vía alternativa. El Factor D puede ser una diana apropiada para inhibición, puesto que su concentración plasmática en humanos es muy baja (1.8 µg/ml), y se ha demostrado que es la enzima limitante para la activación de la vía de complemento alternativa (P.H. Lesavre and H.J. Müller-Eberhard. *J. Exp. Med.*, 1978; 148: 1498-1510; J.E. Volanakis et al., *New Eng. J. Med.*, 1985; 312: 395-401).

X
16

[0004] Se ha demostrado que la regulación por disminución de la activación del complemento es efectiva en tratar varias indicaciones patológicas en modelos animales y en estudios *ex vivo*, por ejemplo, lupus eritematoso sistémico y glomerulonefritis (Y. Wang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*; 1996, 93: 8563-8568), artritis reumatoide (Y. Wang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1995; 92: 8955-8959), bypass cardiopulmonar y hemodiálisis (C.S. Rinder, *J. Clin. Invest.*, 1995; 96: 1564-1572), rechazo hiperagudo en transplante de órganos (T.J. Kroshus et al., *Transplantation*, 1995; 60: 1194-1202), infarto del miocardio (J. W. Homeister et al., *J. Immunol.*, 1993; 150: 1055-1064; H.F. Weisman et al., *Science*, 1990; 249: 146-151), lesión por reperfusión (E.A. Amsterdam et al., *Am. J. Physiol.*, 1995; 268: H448-H457), y síndrome disneico agudo del adulto (R. Rabinovici et al., *J. Immunol.*, 1992; 149: 1744-1750). Además, otras afecciones inflamatorias y enfermedades complejas autoinmunitarias/inmunitarias están también estrechamente asociadas con la activación del complemento (V.M. Holers, *ibid.*, B.P. Morgan. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1994; 24: 219-228), incluida la lesión térmica, asma grave, choque anafiláctico, inflamación intestinal, urticaria, angioedema, vasculitis, esclerosis múltiple, miastenia grave, glomerulonefritis membranoproliferativa y síndrome de Sjögren.

[0005] Existe una necesidad de terapéutica con anticuerpos en el campo de los trastornos mediados por complemento, y los anticuerpos humanizados de la presente invención proveen anticuerpos de alta afinidad útiles para satisfacer esta necesidad.

Sumario de la Invención

[0006] La presente invención se refiere generalmente a anticuerpos que comprenden las secuencias de dominio variable de cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo murino 166-32, el cual es un anticuerpo capaz de inhibir las actividades biológicas asociadas con el Factor D. Por ejemplo, con una concentración de 18 µg/ml (equivalente a alrededor de 1.5 veces la concentración molar del factor D humano en la sangre; relación molar del anticuerpo anti-Factor D a Factor D de alrededor de 1.5:1), puede observarse una inhibición significativa de la actividad de complemento alternativa por el anticuerpo (véase, por ejemplo, Patente de los Estados Unidos No. 6,956,107)

8
17

[0007] La presente invención se refiere igualmente a anticuerpos humanizados de MAb 166-32 murino. La invención incluye las secuencias de aminoácidos de la cadena variable ligera y pesada de los anticuerpos y sus correspondientes secuencias de ácido nucleico. Otra incorporación de la invención incluye las secuencias CDR de estos anticuerpos.

[0008] Otra incorporación de la presente invención incluye composiciones que comprenden un anticuerpo de la invención. En otra incorporación, la invención provee líneas de células y vectores que albergan las secuencias de anticuerpo de la presente invención. En un aspecto, la invención incluye un método de elaborar y usar anticuerpos y composiciones de la invención.

[0009] Otra incorporación de la presente invención es el uso de estos anticuerpos humanizados para la preparación de un medicamento o composición para el tratamiento de trastornos asociados con una activación de complemento excesiva o incontrolada. Éstos incluyen activación de complemento durante operaciones de bypass cardiopulmonar; activación de complemento debida a isquemia-reperfusión luego de infarto agudo del miocardio, aneurisma, apoplejía, choque hemorrágico, lesión por aplastamiento, insuficiencia multiorgánica, choque hipovolémico, isquemia intestinal u otros episodios causantes de isquemia. Se ha demostrado así mismo que la activación de complemento está asociada con enfermedades inflamatorias tales como quemaduras graves, endotoxemia, choque septicémico, síndrome disneico del adulto, hemodiálisis; choque anafiláctico, asma grave, angioedema, enfermedad de Crohn, anemia drepanocítica, glomerulonefritis pos-estreptocócica y pancreatitis. El trastorno puede ser el resultado de una reacción adversa a medicamentos, alergia por medicamentos, síndrome de fuga vascular inducida por IL-2 o alergia a medio de contraste radiográfico. Incluye además enfermedad autoinmunitaria tal como lupus eritematoso sistémico, miastenia grave, artritis reumatoide, enfermedad de Alzheimer y esclerosis múltiple. La activación de complemento se asocia igualmente con el rechazo de trasplantes. La activación de complemento se asocia también con enfermedades oculares tales como degeneración macular relacionada con la edad, retinopatía diabética.

Breve Descripción de las Figuras

18

[00010] Figuras 1A y 1B ilustran la secuencia de aminoácidos de la Cadena Pesada Variable (Figura 1B) y la Cadena Ligera Variable (Figura 1B) I del MAb 166-32 Murino.

[00011] Figuras 2A y 2B ilustran la secuencia de ácido nucleico la Cadena Pesada Variable (Figura 2A) y la Cadena Ligera Variable (Figura 2B) del MAb 166-32 Murino.

[00012] Figura 3 ilustra la comparación de la cadena pesada del MAb 166-32 murino.

HOJA CORREGIDA (REGLA 91) ISA/EP

[00013] Figura 4 ilustra la comparación de la cadena ligera del MAb 166-32 murino.

[00014] Figura 5 ilustra las secuencias de aminoácidos de la Cadena Pesada Variable y la Cadena Ligera Variable para cada clon de anticuerpo humanizado #56, #111, #250 y #416.

[00015] Figura 6 ilustra los resultados del análisis hemolítico para el clon FAB del anticuerpo humanizado #56, #111, # 250 y #416.

[00016] Figura 7 ilustra la inhibición de la actividad del complemento alternativa por clones Fab del anticuerpo humanizado #56, #111, # 250 y #416.

[00017] Figura 8A-B (estructuras de consenso pesadas variables (VH)) y Figura 9A-B (estructuras de consenso ligeras variables (VL)) ilustran secuencias de estructuras de consenso humanas de aceptor ejemplares, que pueden usarse en la práctica de la presente invención con identificadores de secuencia en la siguiente forma: (Figura 8A-B) estructura de consenso subgrupo I VH humana menos CDRs de Kabat (SEQ ID NO: 28), estructura de consenso subgrupo VH humano menos regiones hipervariables extendidas (SEQ ID NOs: 29-31), estructura de consenso subgrupo II VH humano menos CDRs de Kabat (SEQ ID NO: 32), estructura de consenso subgrupo II VH humano menos regiones hipervariables extendidas (SEQ ID NOs: 33-35), estructura de consenso subgrupo III VH humano menos CDRs de Kabat (SEQ ID NO: 36), estructura de consenso

10
19

subgrupo III VH humano menos regiones hipervariables extendidas (SEQ ID NOs: 37-39), estructura de consenso subgrupo VII VH humano menos CDRs de Kabat (SEQ ID NO: 55), estructura de consenso subgrupo VII VH humano menos regiones hipervariables extendidas (SEQ ID NOs: 56-58), estructura de aceptor VH humano menos CDRs de Kabat (SEQ ID NO: 40), estructura de aceptor VH humano menos regiones hipervariables extendidas (SEQ ID NOs: 41-42), estructura de aceptor 2 VH humano menos CDRs de Kabat (SEQ ID NO: 43) y estructura de aceptor 2 VH humano menos regiones hipervariables extendidas (SEQ ID NOs: 44-46) y (Figura 9A-B) estructura de consenso subgrupo I kappa VL humano (SEQ ID NO: 47), estructura de consenso subgrupo II kappa VL humano (SEQ ID NO: 48), estructura de consenso subgrupo III kappa humano (SEQ ID NO: 49) y estructura de consenso subgrupo IV kappa humano (SEQ ID NO: 50).

Descripción Detallada de la Invención

Definiciones

[00018] Los términos empleados a todo lo largo de esta solicitud tienen que interpretarse con el significado típico y ordinario para los expertos en el arte. No obstante, los solicitantes desean que a los términos siguientes se les dé la definición particular como se indica a continuación.

[00019] La expresión "sustancialmente idéntica" con respecto a una secuencia polipeptídica de cadena de anticuerpo puede interpretarse como una cadena de anticuerpo que exhibe por lo menos 70%, u 80%, o 90% o 95% de identidad de secuencia con la secuencia polipeptídica de referencia. El término con respecto a una secuencia de ácido nucleico puede interpretarse como una secuencia de nucleótidos que exhibe por lo menos alrededor de 85%, o 90%, o 95% o 97% de identidad de secuencia con la secuencias de ácido nucleico de referencia.

[00020] El término "identidad" u "homología" se interpretará como significativo del porcentaje de residuos de aminoácidos en la secuencia candidata, que son idénticos con el residuo de una secuencia correspondiente con la cual se compara, luego de alinear las secuencias e introducir vacíos ("**gaps**"), si es necesario, para lograr la identidad porcentual máxima para toda la secuencia, y sin considerar cualesquiera sustituciones conservadoras como parte de la identidad

H
26

de secuencia. No se interpretará que las extensiones N- o C-terminales ni las inserciones reducen la identidad u homología. Métodos y programas de computador para el alineamiento son bien conocidos en el arte. La identidad de secuencia puede medirse usando software de análisis de secuencias.

[00021] El término "anticuerpo" se emplea en el sentido más amplio y, específicamente, cubre anticuerpos monoclonales (incluidos los anticuerpos monoclonales de longitud completa), anticuerpos policlonales y anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos). Los anticuerpos (Abs) y las inmunoglobulinas (Igs) son glucoproteínas que tienen las mismas características estructurales. Mientras los anticuerpos exhiben especificidad de unión a una diana específica, las inmunoglobulinas incluyen tanto anticuerpos como otras moléculas tipo anticuerpo, las cuales carecen de especificidad de diana. Los anticuerpos naturales y las inmunoglobulinas son usualmente glucoproteínas heterotetraméricas de alrededor de 150.000 daltons, compuestas de dos cadenas ligeras (L) idénticas y dos cadenas pesadas (H) idénticas. Cada cadena pesada tiene en un extremo un dominio variable (V_H) seguido por un número de dominios constantes. Cada cadena ligera tiene un dominio variable en un extremo (V_L) y un dominio constante en su otro extremo.

[00022] Tal como se emplea en esta especificación, "anticuerpo de Factor D anti-humano" significa un anticuerpo que se une específicamente al Factor D humano de tal manera que inhibe o reduce sustancialmente la activación de complemento.

[00023] El término "variable", en el contexto de dominio variable de anticuerpos, se refiere al hecho de que ciertas porciones de los dominios variables difieren extensivamente en secuencia entre anticuerpos y se utilizan en la unión y especificidad de cada anticuerpo particular para su diana particular. No obstante, la variabilidad no está uniformemente distribuida a través de los dominios variables de los anticuerpos. Ésta se concentra en tres segmentos denominados regiones determinantes de complementariedad (CDRs), también conocidas como regiones hipervariables (HVRs), tanto en los dominios variables de cadena pesada como en los de cadena ligera. Las porciones más altamente conservadas de los dominios variables se denominan la estructura (FR). Los dominios variables de cadenas naturales pesadas y ligeras comprenden cada uno cuatro regiones FR que

Handwritten marks: a stylized signature and the number '21'.

adoptan en gran medida una configuración de hoja β (" **β -sheet configuration**"), conectada por tres CDRs, que forman bucles que conectan y, en algunos casos, forman parte de la estructura de la hoja β . Las CDRs en cada cadena se mantienen juntas en estrecha proximidad por las regiones FR y, con las CDRs de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión a diana de anticuerpos (véase Kabat *et al.*). Tal como se emplea en esta especificación, la numeración de residuos de aminoácidos de las inmunoglobulinas se realiza de acuerdo con el sistema de numeración de residuos de aminoácidos de inmunoglobulinas de Kabat *et al.*, (*Sequences of Proteins of Immunological Interest*, National Institute of Health, Bethesda, MD. 1987), a menos que se indique lo contrario.

[00024] El término "región hipervariable", "HVR", o "HV", cuando se emplea en esta solicitud, se refiere a las regiones de un dominio variable de un anticuerpo que son hipervariables en bucles definidos estructuralmente de secuencia y/o forma. Generalmente, los anticuerpos comprenden seis regiones hipervariables; tres en el VH (H1, H2, H3), y tres en el VL (L1, L2, L3). En esta especificación se encuentran comprendidos y se emplean un número de delineamientos de regiones hipervariables. Las Regiones Determinantes de Complementariedad de Kabat (CDRs) se basan en la variabilidad de secuencia y son las más comúnmente empleadas (Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). Chothia, en cambio, se refiere a la localización de los bucles estructurales (Chothia and Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). Las regiones hipervariables del AbM representan un compromiso entre las CDRs de Kabat y los bucles estructurales de Chothia, y se utilizan por el Oxford Molecular's AbM antibody modeling software. Las regiones hipervariables de "contacto" se basan en el análisis de las estructuras cristalinas completas disponibles. Los residuos de cada una de estas regiones hipervariables se anotan a continuación.

Bucle	Kabat	AbM	Chothia	Contacto
----	-----	---	-----	-----
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B

(7)
22

(Numeración de Kabat)

H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35
----	---------	---------	---------	---------

(Numeración de Chothia)

H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
----	---------	---------	---------	---------

H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101
----	----------	----------	----------	----------

[00025] Las regiones hipervariables pueden comprender "regiones hipervariables extendidas", como sigue: 24-36 o 24-34 (L1), 46-56 o 50-56 (L2) y 89-97 (L3) en el VL y 26-35 (H1), 50-65 o 49-65 (H2) y 93-102, 94-102 o 95-102 (H3) en el VH. Los residuos del dominio variable se numeran de acuerdo con Kabat *et al.*, *supra* para cada una de estas definiciones.

[00026] "Estructura" o residuos "FR" son aquellos residuos de dominio variable distintos de los residuos de región hipervariable o los residuos CDR definidos en esta especificación.

[00027] El término "numeración de residuos de dominio variable como en Kabat" o "numeración de posiciones de aminoácidos como en Kabat", y sus variaciones, se refiere al sistema de numeración utilizado para dominios variables de cadena pesada o para dominios variables de cadena ligera de la compilación de anticuerpos en Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991). Usando este sistema de numeración, la secuencia lineal actual de aminoácidos puede contener pocos aminoácidos o aminoácidos adicionales que correspondan a un acortamiento de, o una inserción en, una FR o CDR del dominio variable. Por ejemplo, un dominio variable de cadena pesada puede incluir un solo inserto de aminoácidos (residuo 52a de acuerdo con Kabat) después del residuo 52 de H2 y residuos insertados (por ejemplo, los residuos 82a, 82b, y 82c, etc., de acuerdo con Kabat) después del residuo 82 de la FR de cadena pesada. La numeración de Kabat de los residuos puede determinarse para un anticuerpo dado mediante alineación en las regiones de homología de la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada "estándar" de Kabat.

[00028] El sistema de numeración de Kabat se usa generalmente cuando se hace referencia a un residuo en el dominio variable (aproximadamente, residuos 1-107 de la cadena ligera y residuos 1-113 de la cadena pesada) (por ejemplo,

143

Kabat et al., *Sequences of Immunological Interest*. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). El "sistema de numeración UE" o "índice UE" se emplea generalmente cuando se hace referencia a un residuo en una región constante de la cadena pesada de inmunoglobulina (por ejemplo, el índice UE divulgado en Kabat *et al.*, supra; la región bisagra en el dominio constante de la cadena pesada es aproximadamente los residuos 216-230 (numeración EU) de la cadena pesada). El "índice EU como en Kabat" se refiere a la numeración de residuos del anticuerpo IgG1 EU humano. A menos que se indique lo contrario en esta especificación, las referencias a números de residuos en el dominio variable de anticuerpos significa la numeración de residuos por el sistema de numeración de Kabat. A menos que se indique lo contrario en esta especificación, las referencias a números de residuos en el dominio constante de anticuerpos significa la numeración de residuos por el sistema de numeración EU (por ejemplo, véase Solicitud Provisional de los Estados Unidos No. 60/640,323, Cifras para la numeración EU).

[00029] El término "fragmento de anticuerpo" se refiere a una porción de un anticuerpo de longitud completa, generalmente la unión a la diana o región variable. Ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen los fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv. La expresión "fragmento funcional o análogo" de un anticuerpo es un compuesto que tiene actividad biológica cualitativa en común con un anticuerpo de longitud completa. Por ejemplo, un fragmento funcional o análogo de un anticuerpo de Factor D anti-humano es uno que puede unirse al Factor D de tal manera que impida o reduzca sustancialmente la activación de complemento. Tal como se emplea en esta especificación, "fragmento funcional" con respecto a anticuerpos, se refiere a fragmentos Fv, F(ab) y F(ab')₂. Un fragmento "Fv" es el fragmento de anticuerpo mínimo que contiene un sitio de reconocimiento y unión a diana completo. Esta región consta de un dímero de un dominio variable de una cadena pesada y una cadena ligera en asociación no covalente estrecha (dímero V_H-V_L). Es en esta configuración que las tres CDRs de cada dominio variable interactúan para definir un sitio de unión a diana en la superficie del dímero V_H-V_L. Colectivamente, las seis CDRs confieren al anticuerpo especificidad de unión a diana. No obstante, incluso un solo dominio variable (o la mitad de un Fv que comprenda únicamente tres CDRs específicas para una diana) tiene la capacidad de reconocer y unirse a la diana. Fragmentos de anticuerpo "Fv de cadena única" o "sFv" comprenden los dominios V_H y V_L de un anticuerpo, en donde estos

dominios están presentes en una sola cadena polipeptídica. Generalmente, el polipéptido Fv comprende además un conector polipeptídico entre los dominios V_H y V_L que permite que el sFv forme la estructura deseada para la unión a la diana.

[00030] El fragmento Fab contiene el dominio constante de la cadena ligera y el primer dominio constante (CH1) de la cadena pesada. Los fragmentos Fab' difieren de los fragmentos Fab por la adición de unos cuantos residuos en el término carboxilo del dominio de cadena pesada CH1, incluidas una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo. Los fragmentos F(ab') se producen por escisión del puente disulfuro en las cisteínas de la bisagra del producto de digestión con pepsina F(ab')₂. Acoplamientos químicos adicionales de fragmentos de anticuerpo son conocidos por las personas de habilidad ordinaria en el arte.

[00031] El término "anticuerpo monoclonal", como se emplea en esta especificación, se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que componen la población son idénticos, excepto por posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, dirigiéndose contra un solo sitio diana. Más aún, en contraste con preparaciones de anticuerpos (policlonales) que, típicamente, incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítomos), cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un solo determinante en la diana. Además de su especificidad, los anticuerpos monoclonales son ventajosos en el sentido de que pueden sintetizarse mediante el cultivo de hibridomas, incontaminados por otras inmunoglobulinas. El calificativo "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo como obtenido de una población sustancialmente homogénea de anticuerpos, y no tiene que interpretarse como que requiere la producción del anticuerpo por algún método particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales para uso con la presente invención pueden aislarse de bibliotecas de anticuerpos en bacteriófagos, usando técnicas bien conocidas. Los anticuerpos monoclonales parentales a usarse de acuerdo con la presente invención pueden elaborarse por el método del hibridoma, descrito por primera vez por Kohler and Milstein, Nature 256, 495 (1975), o pueden elaborarse por métodos recombinantes.

[00032] Formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (por ejemplo,

16
75

murinos) son inmunoglobulinas quiméricas, cadenas de inmunoglobulina o sus fragmentos (tales como Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ u otras subsecuencias de unión a diana de anticuerpos), que contienen una secuencia mínima derivada de una inmunoglobulina no humana. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente la totalidad de por lo menos uno y, típicamente dos, dominios variables, en los cuales todas o sustancialmente todas las regiones CDR corresponden a aquellas de una inmunoglobulina no humana, y todas o sustancialmente todas las regiones FR son las de una secuencia de consenso de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado puede contener además por lo menos una porción de una región constante (Fc) de inmunoglobulina, típicamente la de una plantilla de inmunoglobulina humana elegida.

[00033] Métodos para humanizar anticuerpos no humanos son bien conocidos en el arte. Generalmente, un anticuerpo humanizado tiene uno o más residuos de aminoácidos introducidos en él de una fuente que es no humana. Estos residuos de aminoácidos no humanos se denominan a menudo residuos de "importación", los cuales se toman típicamente de un dominio variable de "importación". La humanización puede realizarse esencialmente siguiendo el método de Winter y colegas [Jones *et al.*, Nature, 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, Nature, 332:323-327 (1988); Verhoeven *et al.*, Science, 239:1534-1536 (1988)], sustituyendo CDRs o secuencias CDR por las secuencias correspondientes de un anticuerpo humano. En consecuencia, tales anticuerpos "humanizados" son anticuerpos quiméricos (Patente de los Estados Unidos No. 4,816,567), en donde sustancialmente menos de un dominio variable humano intacto se ha sustituido por la secuencia correspondiente de una especie no humana. En la práctica, anticuerpos humanizados son típicamente anticuerpos humanos en los cuales algunos residuos CDR y, posiblemente, algunos residuos FR se sustituyen con residuos de sitios análogos en anticuerpos de roedor.

[00034] La elección de dominios variables humanos, ligeros y pesados, para usarlos en elaborar los anticuerpos humanizados es muy importante para reducir la antigenicidad y/o la respuesta HAMA (anticuerpo-antirratón humano) cuando el anticuerpo se destina a uso terapéutico humano. La reducción o eliminación de una respuesta HAMA es generalmente un aspecto significativo del desarrollo clínico de agentes terapéuticos apropiados. Véase, por ejemplo, Khazzaeli *et al.*, *J. Natl. Cancer Inst.* (1988), 80:937; Jaffers *et al.*, *Transplantation* (1986), 41:572;

26

Shawler et al., J. Immunol. (1985), 135:1530; Sears et al., J. Biol. Response Mod. (1984), 3:138; Miller et al., Blood (1983), 62:988; Hakimi et al., J. Immunol. (1991), 147:1352; Reichmann et al., Nature (1988), 332:323; Junghans et al., Cancer Res. (1990), 50:1495. Como se describe en esta especificación, la invención provee anticuerpos que se humanizan de modo que la respuesta HAMA se reduzca o elimine. Variantes de estos anticuerpos pueden obtenerse además usando métodos rutinarios conocidos en el arte, algunos de los cuales se describen a continuación con más detalle. De acuerdo con el denominado método de "ajuste óptimo", se criba la secuencia del dominio variable de un anticuerpo de roedor contra toda la biblioteca de secuencias de dominio variable humanas conocidas. La secuencia de dominio V humana que es más próxima a la del roedor se acepta entonces como la región estructura (FR) humana para el anticuerpo humanizado Sims et al., J. Immunol., 151:2296 (1993); Chothia et al., J. Mol. Biol., 196:901 (1987). Otro método usa una región estructura particular derivada de la secuencia de consenso de todos los anticuerpos humanos de un subgrupo particular de cadenas ligeras y pesadas. El mismo marco puede utilizarse para varios anticuerpos humanizados diferentes (Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol., 151:2623 (1993)).

[00035] Por ejemplo, una secuencia de aminoácidos de un anticuerpo, como se describe en esta especificación, puede servir como secuencia de partida (parental) para la diversificación de la secuencia(s) de la estructura y/o secuencia(s) hipervariable(s). Una secuencia de estructura seleccionada, a la cual se conecta una secuencia hipervariable de partida, se designa en esta especificación como una estructura humana de aceptor. Aunque las estructuras humanas de aceptor pueden ser, o derivarse, de una inmunoglobulina humana (las regiones VL y/o VH de la misma), las estructuras humanas de aceptor pueden ser o derivarse de una secuencia de estructura de consenso humana, ya que se ha demostrado que tales estructuras poseen una inmunogenicidad mínima, o ninguna, en pacientes humanos. Una "estructura humana de aceptor" para los propósitos contemplados en esta especificación es una estructura que comprende la secuencia de aminoácidos de una estructura VL o VH derivada de una estructura de inmunoglobulina humana, o de una estructura de consenso humana. Una estructura humana de aceptor "derivada de" una estructura de inmunoglobulina humana o estructura de consenso humana pueden comprender su misma secuencia de aminoácidos, o pueden contener cambios de secuencia de

aminoácidos pre-existent. Donde los cambios de aminoácidos pre-existent están presentes, preferiblemente no más de 5 y preferiblemente 4 o menos, o 3 o menos, cambios de amino-ácidos pre-existent están presentes. En una incorporación, la estructura humana de aceptor VH es idéntica en secuencia a la secuencia de la estructura de inmunoglobulina humana VH o secuencia de estructura de consenso humana. En una incorporación, la estructura humana de aceptor VL es idéntica en secuencia a la secuencia de estructura de inmunoglobulina humana VL o la secuencia de estructura de consenso humana. Una "estructura de consenso humana" es una estructura que representa el residuo de aminoácidos de ocurrencia más común en una selección de secuencias de estructura VL o VH de inmunoglobulina humana. Generalmente, la selección de secuencia VL o VH de inmunoglobulina humana es de un subgrupo de secuencias de dominio variable. Generalmente, el subgrupo de secuencias es un subgrupo como en Kabat *et al.* En una incorporación, para el VL, el subgrupo es un subgrupo kappa I como en Kabat *et al.* En una incorporación, para el VH, el subgrupo es el subgrupo III como en Kabat *et al.*

[00036] Donde el aceptor se deriva de una inmunoglobulina humana, se puede seleccionar opcionalmente una secuencia de estructura humana que se selecciona con base en su homología con la secuencia de estructura de donador alineando la secuencia de estructura de donador con varias secuencias de estructura humana en un conjunto de de secuencias de estructura humana, y seleccionar la secuencia de estructura más homóloga como el aceptor. La estructura humana del aceptor puede ser o derivarse de secuencias de línea germinal de anticuerpo humano disponibles en las bases de datos públicas.

[00037] En una incorporación, las estructuras de consenso humanas contempladas en esta especificación son, o se derivan, de secuencias de estructura de consenso del subgrupo VII VH y/o subgrupo I kappa VL.

[00038] En una incorporación, la plantilla de estructura humana utilizada para la generación de un anticuerpo anti-Factor D puede comprender secuencias de estructura de una plantilla que incluye una combinación de VI-4.1b+ (familia VH7) y JH4d para la cadena VH (Figura 3) y/o una combinación de DPK4 (familia Vkl) y JK2 para la cadena VL (Figura 4).

19
28

[00039] Por consiguiente, la estructura humana del aceptor VH puede comprender uno, dos, tres o la totalidad de las siguiente secuencias de estructura: FR1 que comprende $QX_1QLVQSGX_2ELKKPGASVKVSC$ KAS (aminoácidos 1-25 de SEQ ID NO: 27), en donde X_1 es I o V, X_2 es P o S; FR2 que comprende $WVX_3QAPGQGLE$ (aminoácidos 36-46 de SEQ ID NO: 27), en donde X_3 es K o R; FR3 que comprende $RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAX_4YYCX_5R$ (aminoácidos 67-98 de SEQ ID NO: 27), en donde X_4 es T o V, X_5 es E o A; FR4 que comprende $WGQGTLVTVSS$ (aminoácidos 105-115 de SEQ ID NO: 8 o aminoácidos 105-115 de SEQ ID NO: 27)

[00040] Ejemplos de estructuras de consenso VH incluyen:
estructura de consenso de subgrupo I VH humana menos CDRs de Kabat (SEQ ID NO:28);
estructura de consenso de subgrupo I VH menos regiones hipervariables extendidas (SEQ ID NOs: 29-31);
estructura de consenso de subgrupo II VH humana menos CDRs de Kabat (SEQ ID NO: 32);
estructura de consenso de subgrupo II VH humana menos regiones hipervariables extendidas (SEQ ID NOs: 33-35);
estructura de consenso de subgrupo III VH humana menos CDRs de Kabat (SEQ ID NO:36);
estructura de consenso de subgrupo III VH humana menos regiones hipervariables extendidas (SEQ ID NO: 37-39);
estructura de consenso de subgrupo VII VH humana menos CDRs de Kabat (SEQ ID NO:55);
estructura de consenso de subgrupo VII VH humana menos regiones hipervariables extendidas (SEQ ID NO: 56-58);
estructura de aceptor VH humana menos CDRs de Kabat (SEQ ID NO: 40);
estructura de aceptor VH humana menos regiones hipervariables extendidas (SEQ ID NOs: 41-42);
estructura de aceptor 2 VH humana menos CDRs de Kabat (SEQ ID NO: 43); o
estructura de aceptor 2 VH humana menos regiones hipervariables extendidas (SEQ ID NOs: 44-45).

[00041] En una incorporación, la estructura humana de aceptor VH comprende una, dos, tres o la totalidad de las siguientes secuencias de estructura:

20
29

FR1 que comprende QVQLVQSGPELKKPGASVKVSCAS (aminoácidos 1-25 de SEQ ID NO: 8),

FR2 que comprende WVRQAPGQGLE (aminoácidos 36-46 de SEQ ID NO: 8),

FR3 que comprende RFVFSLDTSVSTAYLQISSSLKAEDTAVYYCER (aminoácidos 67-98 de SEQ ID NO: 8),

RFVFSLDTSVSTAYLQISSSLKAEDTAVYYCE (aminoácidos 67-97 de SEQ ID NO: 8),

RFVFSLDTSVSTAYLQISSSLKAEDTAVYYC (aminoácidos 67-96 de SEQ ID NO: 8),

RFVFSLDTSVSTAYLQISSSLKAEDTAVYYCS (SEQ ID NO: 51), o

RFVFSLDTSVSTAYLQISSSLKAEDTAVYYCSR (SEQ ID NO: 52)

FR4 que comprende WGQGTTLTVSS (aminoácidos 105-115 de SEQ ID NO: 8 o aminoácidos 105-115 de SEQ ID NO: 27).

[00042] La estructura humana de aceptor VL comprende una, dos, tres o la totalidad de las siguientes secuencias de estructura:

FR1 que comprende DIQX₆TQSPSSLX₇SVGDRVITC (aminoácidos 1-23 de SEQ ID NO: 26), en donde X₆ es V o M, X₇ es M o A;

FR2 que comprende WYQQKPGKX₈PKLLIX₉ (aminoácidos 35-49 de SEQ ID NO: 26), en donde X₈ es P o V, X₉ es S o Y;

FR3 que comprende GVPSRFSX₁₀SGSGX₁₁DFTLTISLQPEDVATYYC (aminoácidos 57-88 de SEQ ID NO: 26), en donde X₁₀ es S o G, X₁₁ es A o T;

FR4 que comprende FGQGTKX₁₂EIK (SEQ ID NO: 54), en donde X₁₂ es V o L.

[00043] Ejemplos de estructuras de consenso VL incluyen:

estructura de consenso de subgrupo I kappa VL humana (SEQ ID NO: 47);

estructura de consenso de subgrupo II kappa VL humana (SEQ ID NO: 48);

estructura de consenso de subgrupo III kappa VL humana (SEQ ID NO: 49); o

estructura de consenso de subgrupo IV kappa VL humana (SEQ ID NO: 50)

[00044] En una incorporación, la estructura humana de aceptor VL puede comprender una, dos, tres o la totalidad de las siguientes secuencias de estructura:

FR1 que comprende DIQVTQSPSSLSASVGDRVITC (aminoácidos 1-23 de SEQ ID NO: 7),

FR2 que comprende WYQQKPGKVPKLLIS (aminoácidos 35-49 de SEQ ID NO:

25
30

7),

FR3 que comprende GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYC (aminoácidos 57-88 de SEQ ID NO: 7),

FR4 que comprende FGQGTKLEIK (aminoácidos 98-107 de SEQ ID NO: 7), o FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 53).

[00045] Aunque el aceptor puede ser idéntico en secuencia a la secuencia de estructura humana seleccionada, sea de una inmunoglobulina humana o estructura de consenso humana, la presente invención contempla que la secuencia de aceptor puede comprender sustituciones de aminoácidos pre-existentes, relativas a la secuencia de inmunoglobulina humana o secuencia de estructura de consenso humana. Las sustituciones pre-existentes son preferiblemente mínimas; usualmente cuatro, tres, dos o una diferencias de aminoácidos, únicamente relativas a la secuencia de inmunoglobulina humana o secuencia de estructura de consenso.

[00046] Residuos de región hipervariable del anticuerpo no humano se incorporan en las estructuras humanas de aceptor VL y/o VH. Por ejemplo, se pueden incorporar residuos correspondientes a los residuos CDR de Kabat, los residuos de bucles hipervariables de Chothia, los residuos Abm, y/o residuos de contacto. Opcionalmente, se incorporan los residuos de regiones hipervariables extendidas, en la siguiente forma: 24-34 (L1), 50-56 (L2) y 89-97 (L3), 26-35 (H1), 50-65 o 49-65 (H2) y 93-102, 94-102, o 95-102 (H3).

[00047] En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas de (a) una HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 23 y SEQ ID NO: 25; (b) una HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14; (c) una HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 20; (d) una HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16; (e) una HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 21 y SEQ ID NO: 24; y (f) una HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 22 y SEQ ID NO: 19.

22
31

[00048] En un aspecto, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D que comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas de (a) una HVR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 13 y SEQ ID NO: 25; (b) una HVR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14; (c) una HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 20; (d) una HVR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16; (e) una HVR-L2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 21 y SEQ ID NO: 24; y (f) una HVR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 22 y SEQ ID NO: 19. En algunas incorporaciones, una HVR con una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identidad de secuencia contiene sustituciones, inserciones, o eliminaciones (deleciones) relativas a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo que comprende esa secuencia de aminoácidos conserva la capacidad de unirse al Factor D. En algunas incorporaciones, un total de 1 a 10 aminoácidos se han sustituido, insertado, o eliminado en la secuencia de referencia seleccionada del grupo conformado por SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 22 y SEQ ID NO: 24. En algunas incorporaciones, la invención provee un anticuerpo que comprende por lo menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis HVRs seleccionadas de (a) una HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 13 y SEQ ID NO: 25; (b) una HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14; (c) una HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos

seleccionada de SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 20; (d) una HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16; (e) una HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 21 y SEQ ID NO: 24; y (f) una HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 22 y SEQ ID NO: 19.

[00049] En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende un dominio variable HOJA CORREGIDA (REGLA 91) ISA/EP ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12. En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena ligera seleccionado de SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 11. En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena pesada que contiene SEQ ID NO: 6. En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena ligera que contiene SEQ ID NO: 5. En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena pesada que contiene SEQ ID NO: 6 y un dominio variable de cadena ligera que contiene SEQ ID NO: 5. En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena pesada que contiene SEQ ID NO: 8. En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena ligera que contiene SEQ ID NO: 7. En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena pesada que contiene SEQ ID NO: 8 y un dominio variable de cadena ligera que contiene SEQ ID NO: 7. En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena pesada que contiene SEQ ID NO: 10. En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena ligera que contiene SEQ ID NO: 9. En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena pesada que contiene SEQ ID NO: 10 y un dominio variable de cadena ligera que contiene SEQ ID NO: 9. En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena pesada que contiene SEQ ID NO: 12. En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena ligera que contiene SEQ ID NO: 11. En un aspecto, la invención provee un anticuerpo que comprende un dominio variable de cadena pesada que contiene SEQ ID NO: 12 y un dominio variable de cadena ligera que contiene SEQ ID NO: 11.

[00050] En un aspecto, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D que comprende un dominio variable de cadena pesada que contiene una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo conformado por SEQ ID NO: 6, 8, 10 y 12. En algunas incorporaciones, una secuencia de aminoácidos que posee por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identidad de secuencia contiene sustituciones, inserciones, o eliminaciones (deleciones), relativas a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo que comprende esa secuencia de aminoácidos conserva la capacidad de unirse al Factor D. En algunas incorporaciones, un total de 1 a 10 aminoácidos se han sustituido, insertado o eliminado en una secuencia seleccionada del grupo conformado por SEQ ID NO: 6, 8, 10 o 12. En algunas incorporaciones, las sustituciones, inserciones o eliminaciones (deleciones) ocurren en regiones fuera de las HVRs (es decir, en las FRs). En algunas incorporaciones, un anticuerpo anti-Factor D comprende un dominio variable de cadena pesada que contiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo conformado por SEQ ID NO: 6, 8, 10 o 12.

[00051] En algunas incorporaciones, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D que comprende un dominio variable de cadena ligera que contiene una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo conformado por SEQ ID NO: 5, 7, 9 y 11. En algunas incorporaciones, una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% identidad de secuencia contiene sustituciones, inserciones o eliminaciones (deleciones), relativas a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo que comprende esa secuencia de aminoácidos conserva la capacidad de unirse al Factor D. En algunas incorporaciones, un total de 1 a 10 aminoácidos se han sustituido, insertado o eliminado en una secuencia seleccionada del grupo conformado por SEQ ID NO: 5, 7, 9 y 11. En algunas incorporaciones, las sustituciones, inserciones o eliminaciones (deleciones) ocurren en regiones fuera de las HVRs (es decir, en las FRs). En algunas incorporaciones, un anticuerpo anti-Factor D comprende un dominio variable de cadena ligera que contiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo conformado por SEQ ID NO: 5, 7, 9 y 11.

28
34

[00052] Un anticuerpo anti-Factor D puede contener cualquier secuencia de dominio variable de estructura apropiada, siempre que el anticuerpo conserve la capacidad de unirse al Factor D. Por ejemplo, en algunas incorporaciones, anticuerpos anti-Factor D de la invención comprenden una secuencia de estructura de dominio variable de cadena pesada que es una combinación de VI.4.1 b+ y JH4d (véase Figura 3). En algunas incorporaciones, anticuerpos anti-Factor D de la invención comprenden una secuencia de consenso de estructura de cadena pesada de subgrupo VII humana. En algunas incorporaciones, anticuerpos anti-Factor D de la invención comprenden una secuencia de estructura de dominio variable de cadena pesada que incluye una FR1 que contiene los aminoácidos 1-25 de SEQ ID NO: 8, FR2 que contiene los aminoácidos 36-46 de SEQ ID NO: 8, FR3 que contiene los aminoácidos 67-98 de SEQ ID NO: 8 y FR4 que contiene los aminoácidos 105-115 de SEQ ID NO: 8. En una incorporación de estos anticuerpos, la secuencia de dominio variable de cadena pesada comprende la sustitución (sustituciones) en la posición 40 y/o 88 (numeración de Kabat). En una incorporación de estos anticuerpos, la posición 40 es cisteína (C) o alanina (A) y/o la posición 88 es cisteína (C) o alanina (A). En algunas incorporaciones, anticuerpos anti-Factor D de la invención comprenden una secuencia de estructura de dominio variable de cadena ligera que es una combinación de DPK4 y JK2 (véase Figura 4). En algunas incorporaciones, anticuerpos anti-Factor D de la invención comprenden una secuencia de consenso de estructura de cadena ligera kappa I (KI). En algunas incorporaciones, anticuerpos anti-Factor D de la invención comprenden una secuencia de estructura de dominio variable de cadena ligera que incluye una FR1 que contiene los aminoácidos 1-23 de SEQ ID NO: 7, FR2 que contiene los aminoácidos 35-49 de SEQ ID NO: 7, FR3 que contiene los aminoácidos 57-88 de SEQ ID NO: 7 y FR4 que contiene los aminoácidos 98-107 de SEQ ID NO: 7. En una incorporación de estos anticuerpos, la secuencia de estructura variable de cadena ligera comprende una o más sustitución (sustituciones) en la posición 15, 43 y/o 104 (numeración de Kabat). En una incorporación de estos anticuerpos, la posición 15 es cisteína (C) o valina (V), la posición 43 es cisteína (C) o alanina (A) y/o la posición 104 es valina (V) o leucina (L).

[00053] Además, un anticuerpo anti-Factor D puede incluir cualquier secuencia de dominio constante apropiada, siempre que el anticuerpo conserve la capacidad de unirse al Factor D. Por ejemplo, en algunas incorporaciones,

26
35

anticuerpos anti-Factor D de la invención contienen por lo menos una porción de un dominio constante de cadena pesada. En una incorporación, anticuerpos anti-Factor D de la invención contienen un dominio constante de cadena pesada de cualquiera o una combinación de una cadena pesada α , δ , ϵ , γ , o μ . Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas (C_H), pueden asignarse inmunoglobulinas a diferentes clases o isotipos. Existen cinco clases de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, que tienen cadenas pesadas designadas α , δ , ϵ , γ , o μ , respectivamente. Las clases γ y α se dividen adicionalmente en subclases sobre la base de diferencias relativamente menores en la secuencia C_H y la función, por ejemplo, los humanos expresan las siguientes subclases: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, e IgA2. En una incorporación, anticuerpos anti-Factor D de la invención contienen un dominio constante de cadena pesada que incluye sustituciones en posiciones de aminoácidos, las cuales resultan en un efecto deseado sobre la función efectora (por ejemplo, afinidad de unión). En una incorporación, anticuerpos anti-Factor D de la invención contienen un dominio constante de cadena pesada que incluye sustituciones en posiciones de aminoácidos, las cuales no resultan en un efecto sobre la función efectora (por ejemplo, afinidad de unión). En una incorporación, anticuerpos anti-Factor D de la invención contienen un dominio constante de cadena pesada del tipo IgG (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4) y contienen además una sustitución en la posición 114 (numeración de Kabat; equivalente a 118 en la numeración EU), 168 (numeración de Kabat; equivalente a 172 en la numeración EU), 172 (numeración de Kabat; equivalente a 176 en la numeración EU) y/o 228 (numeración EU). En una incorporación, anticuerpos anti-Factor D de la invención contienen un dominio constante de cadena pesada del tipo IgG (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4) y contienen además una sustitución en la posición 114 en donde la posición 114 es una cisteína (C) o alanina (A), la posición 168 es cisteína (C) o alanina (A), la posición 172 es una cisteína (C) o alanina (A) y/o la posición 228 es una prolina (P), arginina (R) o serina (S).

[00054] Además, por ejemplo, en algunas incorporaciones, anticuerpos anti-Factor D de la invención contienen por lo menos una porción de un dominio constante de cadena ligera. En una incorporación, anticuerpos anti-Factor D de la invención contienen un dominio constante de cadena ligera de una cualquiera o una combinación de una cadena ligera kappa o lambda, ya que la cadena ligera de cualquier especie vertebrada puede asignarse a uno de dos tipos distintos,

27.
36

llamados kappa y lambda, basados en las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes. En una incorporación, anticuerpos anti-Factor D de la invención contienen un dominio constante de cadena ligera que incluye sustituciones en posiciones aminoácidos, que resultan en un efecto deseado sobre la función efectora (por ejemplo, afinidad de unión). En una incorporación, anticuerpos anti-Factor D de la invención contienen un dominio constante de cadena ligera que incluye sustituciones en posiciones de aminoácidos que no resultan en un efecto sobre la función efectora (por ejemplo, afinidad de unión). En una incorporación, anticuerpos anti-Factor D de la invención contienen un dominio constante de cadena ligera del tipo kappa y contienen además una sustitución en la posición 110, 144, 146 y/o 168 (numeración de Kabat). En una incorporación, anticuerpos anti-Factor D de la invención contienen un dominio constante de cadena ligera del tipo kappa y contienen además una sustitución en la posición 110 en donde 110 es una cisteína (C) o valina (V), en la posición 144 en donde 144 es una cisteína (C) o alanina (A), en la posición 146 en donde 146 es una isoleucina (I) o valina (V) y/o en la posición 168 en donde 168 es una cisteína (C) o serina (S).

[00055] En un aspecto, la invención provee anticuerpos que compiten con el anticuerpo 166-32 murino y/o clon del anticuerpo anti-Factor D humanizado #56, #111, #250 o #416, y/o un anticuerpo que contiene el dominio variable o las secuencias HVR del clon del anticuerpo anti-Factor D humanizado #56, #111, #250 o #416. Se proveen así mismo anticuerpos que se unen al mismo epítipo que el anticuerpo murino 166-32 y/o el clon del anticuerpo anti-Factor D humanizado #56, #111, #250 o #416, y/o un anticuerpo que comprende el dominio variable o secuencias HVR del clon del anticuerpo anti-Factor D humanizado #56, #111, #250 o #416.

[00056] En una incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad monovalente del anticuerpo al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es menor, por ejemplo por lo menos 1 vez o 2 veces menor que la afinidad monovalente de un anticuerpo quimérico (por ejemplo, afinidad del anticuerpo quimérico como un fragmento Fab al Factor D), que contiene, conformado o esencialmente conformado por un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 2 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 1.

28
31

[00057] En una incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad bivalente del anticuerpo al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es menor, por ejemplo por lo menos 1 vez o 2 veces menor que la afinidad bivalente de un anticuerpo quimérico (por ejemplo, afinidad del anticuerpo quimérico como una IgG al Factor D), que contiene, conformado o esencialmente conformado por un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 2 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 1.

[00058] En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad monovalente del anticuerpo al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es mayor, por ejemplo por lo menos 1 vez o 2 veces mayor que la afinidad monovalente de un anticuerpo quimérico (por ejemplo, afinidad del anticuerpo quimérico como un fragmento Fab al Factor D), que contiene, conformado o esencialmente conformado por un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 2 y un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 1.

[00059] En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde afinidad bivalente del anticuerpo al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es mayor, por ejemplo por lo menos 1 vez o 2 veces mayor que la afinidad bivalente de un anticuerpo quimérico (por ejemplo, la afinidad del anticuerpo quimérico como una IgG al Factor D), que contiene, conformado o esencialmente conformado por un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 2 y un dominio variable de cadena pesada SEQ ID NO: 1.

[00060] En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es 1.0 nM (1.0×10^{-9} M) o mejor. En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es 0.5 nM (0.5×10^{-9} M) o mejor. En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento

29
38

Fab al Factor D) es 1.0 pM (1.0×10^{-12} M) o mejor. En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es 0.5 pM (0.5×10^{-12} M) o mejor.

[00061] En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es 1.0 nM (1.0×10^{-9} M) o mejor. En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es 0.5 nM (0.5×10^{-9} M) o mejor. En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es 1.0 pM (1.0×10^{-12} M) o mejor. En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es 0.5 pM (0.5×10^{-12} M) o mejor.

[00062] En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) está entre 0.5 mM (0.5×10^{-6} M) y 0.5 pM (0.5×10^{-12} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) está entre 15 nM (15×10^{-9} M) y 0.1 nM (0.1×10^{-9} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) está entre 5.5 nM (5.5×10^{-9} M) y 1 nM (1×10^{-9} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) está entre 0.5 pM (0.5×10^{-12} M) y 2 pM (2×10^{-12} M).

[00063] En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) está entre 0.5 mM

(0.5×10^{-6} M) y 0.5 pM (0.5×10^{-12} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) está entre 10 nM (10×10^{-9} M) y 0.05 nM (0.05×10^{-9} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) está entre 5.5 nM (5.5×10^{-9} M) y 1 nM (1×10^{-9} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) está entre 0.5 pM (0.5×10^{-12} M) y 2 pM (2×10^{-12} M).

[00064] En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 3.7 nM (3.7×10^{-9} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 3.3 nM (3.3×10^{-9} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 5.1 nM (5.1×10^{-9} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 2.7 nM (2.7×10^{-9} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 1.4 nM (1.4×10^{-9} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 1.4 pM (1.4×10^{-12} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es alrededor de 1.1 pM (1.1×10^{-12} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D

39
40

(por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 0.19 nM ($0.19 \times 10^{-9} \text{M}$). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es alrededor de 0.08 nM ($0.08 \times 10^{-9} \text{M}$). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 12.3 nM ($12.3 \times 10^{-9} \text{M}$). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es alrededor de 9.0 nM ($9.0 \times 10^{-9} \text{M}$).

37
91

Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) está entre 5.5 nM (5.5×10^{-9} M) y 1 nM (1×10^{-9} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) está entre 0.5 pM (0.5×10^{-12} M) y 2 pM (2×10^{-12} M).

[00064] En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 0.37 nM (3.7×10^{-10} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 0.33 nM (3.3×10^{-10} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 0.51 nM (5.1×10^{-10} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 2.7 nM (2.7×10^{-9} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 1.4 nM (1.4×10^{-9} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 1.4 pM (1.4×10^{-12} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es alrededor de 1.1 pM (1.1×10^{-12} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 0.19 nM (0.19×10^{-9} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es alrededor de 0.08 nM (0.08×10^{-9} M). En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma

33
62

monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al

HOJA CORREGIDA (REGLA 91) ISA/EP

74
u3

[00065] En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 1.4 pM (1.4×10^{-12} M) +/- 0.5. En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es alrededor de 1.1 pM (1.1×10^{-12} M) +/- 0.6. En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 0.19 nM (0.19×10^{-9} M) +/- .01. En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es alrededor de 0.08 nM (0.08×10^{-9} M) +/- 0.01. En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 12.3 nM (12.3×10^{-9} M) +/- 2. En otra incorporación, la invención provee un anticuerpo anti-Factor D en donde la afinidad del anticuerpo en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es alrededor de 9.0 nM (9.0×10^{-9} M) +/- 1.

[00066] En otra incorporación, un anticuerpo anti-Factor D puede tener una afinidad en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) de alrededor de 3.7 nM (3.7×10^{-9} M) +/- 2. En otra incorporación, un anticuerpo anti-Factor D puede tener una afinidad en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) de alrededor de 3.3 nM (3.3×10^{-9} M) +/- 2. En otra incorporación, un anticuerpo anti-Factor D puede tener una afinidad en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) de alrededor de 5.1 nM (5.1×10^{-9} M) +/- 2. En otra incorporación, un anticuerpo anti-Factor D puede tener una afinidad en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) de alrededor de 2.7 nM (2.7×10^{-9} M) +/- 2. En otra incorporación, un anticuerpo anti-Factor D puede tener una afinidad en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) de alrededor

75
44

de 1.4 nM (1.4×10^{-9} M) +/- 2. En otra incorporación, un anticuerpo anti-Factor D puede tener una afinidad en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) de alrededor de 1.4 pM (1.4×10^{-12} M) +/- 2. En otra incorporación, un anticuerpo anti-Factor D puede tener una afinidad en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) de alrededor de 1.1 pM (1.1×10^{-12} M) +/- 2. En otra incorporación, un anticuerpo anti-Factor D puede tener una afinidad en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 0.19 nM (0.19×10^{-9} M) +/- 2. En otra incorporación, un anticuerpo anti-Factor D puede tener una afinidad en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es alrededor de 0.08 nM (0.08×10^{-9} M) +/- 2. En otra incorporación, un anticuerpo anti-Factor D puede tener una afinidad en su forma monovalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como un fragmento Fab al Factor D) es alrededor de 12.3 nM (12.3×10^{-9} M) +/- 2. En otra incorporación, un anticuerpo anti-Factor D puede tener una afinidad en su forma bivalente al Factor D (por ejemplo, afinidad del anticuerpo como una IgG al Factor D) es alrededor de 9.0 nM (9.0×10^{-9} M) +/- 2.

[00067] Como está bien establecido en el arte, la afinidad de unión de un ligando a su receptor puede determinarse usando cualquiera de una variedad de análisis, y expresarse en términos de una variedad de valores cuantitativos. En consecuencia, en una incorporación, la afinidad de unión se expresa como valores K_d y refleja una afinidad de unión intrínseca (por ejemplo, como efectos de aidez minimizados). General y preferiblemente, la afinidad de unión se mide *in vitro*, ya sea en un escenario libre de células o asociado con células. Como se describe con mayor detalle en esta especificación, los múltiplos de diferencia ("**the fold difference**") en la afinidad de unión pueden cuantificarse en términos de la relación del valor de afinidad de unión monovalente de un anticuerpo humanizado (por ejemplo, en forma Fab) y el valor de afinidad de unión monovalente de un anticuerpo de referencia/comparador (por ejemplo, en forma Fab) (por ejemplo, un anticuerpo murino que tiene secuencias de región hipervariable de donador), en donde los valores de afinidad de unión se determinan bajo condiciones similares de análisis. Por consiguiente, en una incorporación, los múltiplos de diferencia en afinidad de unión se determina como la relación de los valores K_d del anticuerpo humanizado en forma Fab y el citado anticuerpo de referencia/comparador. Por

36
45

ejemplo, en una incorporación, si un anticuerpo de la invención (A) tiene una afinidad que es "3 veces menor" que la afinidad de un anticuerpo de referencia (M), entonces si el valor K_d para A es $3x$, el valor K_d de M sería $1x$, y la relación del K_d de A al K_d de M sería 3:1. Inversamente, en una incorporación, si un anticuerpo de la invención (C) tiene una afinidad que es "3 veces mayor" que la afinidad de un anticuerpo de referencia (R), entonces el valor K_d para C es $1x$, el valor K_d de R sería $3x$, y la relación del K_d de C al K_d de R sería 1:3. Cualquiera de un número de análisis conocidos en el arte, incluidos los descritos en esta solicitud, puede usarse para obtener medidas de afinidad de unión, incluyendo, por ejemplo, Biacore, radioinmunoanálisis (RIA) y ELISA.

[00068] Además, los valores K_d para un anticuerpo de la invención pueden variar dependiendo de las condiciones del análisis particular utilizado. Por ejemplo, en una incorporación, las mediciones de afinidad de unión pueden obtenerse en un análisis en donde el Fab o anticuerpo se inmoviliza y se mide la unión del ligando, es decir Factor D, o alternativamente, el ligando, es decir Factor D, para el Fab o anticuerpo se inmoviliza y se mide la unión del Fab o anticuerpo. En una incorporación, las mediciones de afinidad de unión pueden obtenerse en un análisis en donde las condiciones de regeneración pueden comprender (1) 10mM glicina o 4M $MgCl_2$ a pH 1.5, y (2) pH entre un pH de 1.0 y un pH de 7.5, incluidos un pH de 1.5, un pH de 5.0, un pH de 6.0 y un pH de 7.2. En una incorporación, las mediciones de afinidad de unión pueden obtenerse en un análisis en donde las condiciones de unión pueden comprender (1) PBS o solución salina amortiguada con HEPES y (2) Tween-20, es decir, 0.1% Tween-20. En una incorporación, las mediciones de afinidad de unión pueden obtenerse en un análisis en donde la fuente del ligando, es decir, Factor D, puede ser de fuentes disponibles en el comercio. En una incorporación, las mediciones de afinidad de unión pueden obtenerse en un análisis en donde (1) el Fab o anticuerpo se inmoviliza y se mide la unión del ligando, es decir, Factor D, (2) las condiciones de regeneración comprenden 4M $MgCl_2$ a pH 7.2 y (3) las condiciones de unión comprenden solución salina amortiguada con HEPES, pH 7.2, que contiene 0.1% Tween-20. En una incorporación, las mediciones de afinidad de unión pueden obtenerse en un análisis en donde (1) el ligando, es decir, Factor D, se inmoviliza y se mide la unión del Fab o anticuerpo, (2) las condiciones de regeneración comprenden 10mM glicina a pH 1.5 y (3) las condiciones de unión comprende una solución amortiguadora PBS.

37
46

[00069] Los términos "célula", "línea celular" y "cultivo de células" incluyen progenie. Se entiende así mismo que toda progenie puede no ser precisamente idéntica en contenido de ADN, debido a mutaciones deliberadas o inadvertidas. Se incluyen progenies variantes que tienen la misma función o propiedad biológica, detectadas en la célula originalmente transformada. Las "células hospederas" empleadas en la presente invención generalmente son hospederos procariotas o eucariotas.

[00070] El término "vector" significa un constructo de ADN que contiene una secuencia de ADN la cual se enlaza operacionalmente a una secuencia de control adecuada, capaz de efectuar la expresión del ADN en un hospedero apropiado. Tales secuencias de control incluyen un promotor para realizar la transcripción, una secuencia operadora opcional para controlar tal transcripción, una secuencia que codifica sitios de unión de ribosomas de ARNm apropiados, y secuencias que controlan la terminación de la transcripción y la traducción. El vector puede ser un plásmido, una partícula de bacteriófago, o simplemente un inserto genómico potencial. Una vez transformado en un hospedero apropiado, el vector puede replicarse y funcionar independientemente del genoma del hospedero, o pueden, en algunos casos, integrarse en el genoma mismo. En la presente especificación, "plásmido" y "vector" se utilizan a veces indistintamente, ya que el plásmido es la forma más comúnmente usada de vector. No obstante, la invención tiene como finalidad incluir otras formas de vectores que sirven una función equivalente, como se conoce en el arte, o que pueden llegar a conocerse en él.

[00071] La palabra "etiqueta", cuando se emplea en esta especificación, se refiere a un compuesto o composición detectable, que puede conjugarse directa o indirectamente a una molécula o proteína, por ejemplo, un anticuerpo. La etiqueta puede ser detectable en sí misma (por ejemplo, etiquetas radioisótopo o etiquetas fluorescentes) o, en el caso de una etiqueta enzimática, puede catalizar la alteración química de un compuesto o composición sustrato, que es detectable.

[00072] Tal como se emplea en esta especificación, "fase sólida" significa una matriz no acuosa a la cual puede adherirse el anticuerpo de la presente invención. Ejemplos de fases sólidas comprendidas en esta especificación incluyen las formadas parcial o enteramente de vidrio (por ejemplo, vidrio de poro

controlado), polisacáridos (por ejemplo, agarosa), poliacrilamidas, polistireno, alcohol polivinílico y siliconas. En ciertas incorporaciones, dependiendo del contexto, la fase sólida puede comprender el pocillo de una placa de análisis; en otras, es una columna de purificación (por ejemplo, una columna de cromatografía de afinidad).

GENERACIÓN DE ANTICUERPOS

SELECCIÓN Y TRANSFORMACIÓN DE CÉLULAS HOSPEDERAS

[00073] Células hospederas apropiadas para clonar o expresar el ADN en los vectores en esta solicitud son las células procariotas, de levadura, o eucariotas superiores. Procariotas apropiados para este propósito incluyen organismos gram-negativos o gram-positivos, por ejemplo, Enterobacteriaceae tales como *E. coli*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia* y *Shigella*, así como *Bacilli*, *Pseudomonas* y *Streptomyces*. Un hospedero de clonación de *E. coli* preferido es *E. coli* 294 (ATCC 31, 446), aunque son apropiadas otras cepas tales como *E. coli* B, *E. coli* X1776 (ATCC 31,537), y *E. coli* W3110 (ATCC 27, 325). Estos ejemplos son ilustrativos y no limitantes.

[00074] Aparte de los procariotas, microbios eucarióticos tales como hongos filamentosos o levadura son hospederos de clonación o expresión apropiados para vectores que codifican el anticuerpo. *Saccharomyces cerevisiae* es el más comúnmente usado entre los microorganismos hospederos eucarióticos inferiores. Sin embargo, un número de otros géneros, especies y cepas se encuentran comúnmente disponibles y son útiles en esta solicitud, tales como *Schizosaccharomyces pombe*; *Kluyveromyces*; *Candida*; *Trichoderma*; *Neurospora crassa*; y hongos filamentosos tales como, *Neurospora*, *Penicillium*, *Tolypocladium*, y hospederos *Aspergillus* tales como *A. nidulans* y *A. niger*.

[00075] Células hospederas apropiadas para la expresión de anticuerpos glucosilados se derivan de organismos multicelulares. En particular, puede utilizarse cualquier cultivo de células eucariotas superiores, ya sea de cultivo de vertebrados o invertebrados. Ejemplos de células de invertebrado incluyen células vegetales y de insecto, Luckow et al., Bio/Technology 6, 47-55 (1988); Miller et al., Genetic Engineering, Setlow et al. eds. Vol. 8, pp. 277-279 (Plenum publishing 1986); Maseda et al., Nature 315, 592-594 (1985). Se han identificado numerosas cepas y variantes de baculovirus y células hospederas de insecto permitidas

29
68

correspondientes de hospederos tales como *Spodoptera frugiperda* (oruga), *Aedes* (mosquito), *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta), y *Bombyx mori*. Una variedad de cepas víricas para transfección se encuentran públicamente disponibles, por ejemplo, la variante L-1 de *Autographa californica* NPV y la cepa Bm-5 de *Bombyx mori* NPV, y tales virus pueden utilizarse como los virus contemplados en esta especificación, solicitud de acuerdo con la presente invención, particularmente para transfección de células de *Spodoptera frugiperda*. Más aún, como hospederos pueden utilizarse igualmente cultivos de células vegetales de algodón, maíz, papa, frijol de soya, petunia, tomate y tabaco.

[00076] Las células de vertebrado, y la propagación de células de vertebrado, en cultivo (cultivo de tejido) se ha vuelto un procedimiento de rutina. Véase *Tissue Culture*, Academic Press, Kruse and Patterson, eds. (1973). Ejemplos de líneas celulares de hospederos mamíferos útiles son células de riñón de mono; células de riñón embrionario humano; células de riñón de crías de hámster; células de ovario de hámster chino/- DHFR (CHO, Urlaub *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); células Sertoli de ratón; células de carcinoma cervical humano (HELA); células de riñón canino; células de pulmón humanas; células hepáticas humanas; tumor mamario de ratón; y células NSO.

[00077] Células hospederas se transforman con los vectores ya descritos para producción de anticuerpos y se cultivan en medio nutriente convencional, modificado según sea apropiado para inducir promotores, seleccionar transformantes, o amplificar los genes que codifican las secuencias deseadas.

[00078] Las células hospederas usadas para producir el anticuerpo de esta invención pueden cultivarse en una variedad de medios. Medios disponibles en el comercio tales como Ham's F10 (Sigma), Minimal Essential Medium ((MEM), (Sigma), RPMI-1640 (Sigma), y Dulbecco's Modified Eagle's Medium ((DMEM), Sigma) son apropiados para cultivar las células hospederas. Adicionalmente, cualquiera de los medios descritos en Ham *et al.*, *Meth. Enz.* 58:44 (1979), Barnes *et al.*, *Anal. Biochem.* 102:255 (1980), Patentes de los Estados Unidos No. 4,767,704; 4,657,866; 4,560,655; 5,122,469; 5,712,163; o 6,048,728 puede utilizarse como medio de cultivo para las células hospederas. Cualquiera de estos medios pueden suplementarse, según sea necesario, con hormonas y/u otros factores de crecimiento (tales como insulina, transferrina, o factor de crecimiento

49

epidérmico), sales (tales como cloruros X, donde X es sodio, calcio, magnesio; y fosfatos), soluciones amortiguadoras (tales como HEPES), nucleótidos (tales como adenosina y timidina), antibióticos (tales como el medicamento GENTAMYCIN™), oligoelementos (definidos como compuestos inorgánicos usualmente presentes en concentraciones finales en el rango micromolar), y glucosa o una fuente de energía equivalente. Cualesquiera otros suplementos necesarios pueden incluirse asimismo en concentraciones apropiadas serían conocidos a los expertos en el arte. Las condiciones de cultivo, tales como temperatura, pH, y similares, son las empleadas previamente con la célula hospedera seleccionada para expresión, y serán evidentes para el profesional de habilidad ordinaria.

PURIFICACIÓN DE ANTICUERPOS

[00079] Cuando se utilizan técnicas recombinantes, el anticuerpo puede producirse intracelularmente, en el espacio periplásmico, o secretarse directamente en el medio. Si la variante del anticuerpo se produce intracelularmente, como un primer paso, los desechos de particulado, ya sea células hospederas o fragmentos lisados, se retiran, por ejemplo, por centrifugación o ultrafiltración. Carter et al., Bio/Technology 10:163-167 (1992) describen un procedimiento para aislar anticuerpos que se segregan al espacio periplásmico de *E. coli*. En pocas palabras, pasta celular se descongela en la presencia de acetato de sodio (pH 3.5), EDTA, y fenilmetilsulfonilfluoruro (PMSF) durante alrededor de 30 minutos. Los desechos celulares pueden eliminarse por centrifugación. Donde la variante del anticuerpo se secreta en el medio, generalmente los sobrenadantes de tales sistemas de expresión se concentran primero usando un filtro de concentración de proteína disponible en el comercio, por ejemplo, una unidad de ultrafiltración Amicon o Millipore Pellicon. Un inhibidor de proteasa tal como PMSF puede incluirse en cualquiera de los pasos anteriores para inhibir proteólisis, y antibióticos pueden incluirse para prevenir el crecimiento de contaminantes adventicios.

[00080] La composición de anticuerpo, preparada de las células, puede purificarse usando, por ejemplo, cromatografía de hidroxilapatita, electroforesis en gel, diálisis, y cromatografía de afinidad, siendo la cromatografía de afinidad la técnica de purificación preferida. La idoneidad de la proteína A como ligando de

afinidad depende de la especie e isotipo de cualquier dominio Fc de inmunoglobulina que está presente en la variante del anticuerpo. La proteína A puede usarse para purificar anticuerpos que se basan en cadenas pesadas humanas IgG1, IgG2 o IgG4 (Lindmark et al., J. Immunol. Meth. 62:1-13 (1983)). La proteína G se recomienda para todos los isotipos de ratón y para IgG3 humana (Guss et al., EMBO J. 5:1567-1575 (1986)). La matriz a la cual se une el ligando de afinidad es muy a menudo agarosa, pero se encuentran disponibles otras matrices. Matrices mecánicamente estables, tales como cristal de poro controlado o poli(estirendivinil)benceno, permiten velocidades de flujo más rápidas y tiempos más cortos de procesamiento de los que pueden lograrse con agarosa. Donde la variante del anticuerpo comprende un dominio C_H3, la resina Bakerbond ABX™ (J. T. Baker, Phillipsburg, NJ) es útil para purificación. Dependiendo de la variante del anticuerpo a recuperarse, se encuentran disponibles también otras técnicas para purificación de proteínas tales como fraccionamiento en columna de intercambio iónico, precipitación en etanol, HPLC de fase reversa, cromatografía en sílice, cromatografía en heparina, cromatografía en SEPHAROSE™ o una resina de intercambio aniónico o catiónico (tal como una columna de ácido poliaspártico), cromatofocado ("**chromatofocusing**"), SDS-PAGE, y precipitación en sulfato de amonio.

[00081] Luego de cualquier paso(s) preliminares de purificación, la mezcla que comprende la variante del anticuerpo de interés y los contaminantes puede someterse a cromatografía de interacción hidrófoba con pH bajo usando una solución amortiguadora de elución con un pH entre alrededor de 2.5-4.5, efectuada preferiblemente con bajas concentraciones de sal (por ejemplo, desde alrededor de 0-0.25M de sal).

FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

[00082] Formulaciones terapéuticas del polipéptido o anticuerpo pueden prepararse para almacenamiento como formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas mezclando el polipéptido, que tiene el grado deseado de pureza, con vehículos, excipientes o estabilizantes opcionales "farmacéuticamente aceptables", empleados típicamente en el arte (todos los cuales se designan como "excipientes"). Por ejemplo, agentes amortiguadores, agentes estabilizantes, preservantes, isotonicantes, detergentes no iónicos, antioxidantes y otros aditivos

misceláneos. (Véase Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, A. Osol, Ed. (1980)). Tales aditivos tienen que ser atóxicos a los destinatarios en las posologías y concentraciones empleadas.

[00083] Los agentes amortiguadores ayudan a mantener el pH en el rango que se aproxima a las condiciones fisiológicas. Están preferiblemente presentes en una concentración que varía desde alrededor de 2 mM a alrededor de 50 mM. Agentes amortiguadores apropiados para uso con la presente invención incluyen ácidos tanto orgánicos como inorgánicos y sales de los mismos, tales como amortiguadores de citrato (por ejemplo, una mezcla de citrato monosódico-citrato disódico, una mezcla de ácido cítrico- citrato trisódico, una mezcla de de ácido cítrico-citrato monosódico, etc.), amortiguadores de succinato (por ejemplo, una mezcla de ácido succínico-succinato monosódico, una mezcla de de ácido succínico-hidróxido de sodio, una mezcla de ácido succínico-succinato disódico, etc.), amortiguadores de tartrato (por ejemplo, una mezcla de ácido tartárico-tartrato sódico, una mezcla de ácido tartárico-tartrato potásico, una mezcla de ácido tartárico-hidróxido de sodio, etc.), amortiguadores de fumarato (por ejemplo, una mezcla de ácido fumárico-fumarato monosódico, etc.), una mezcla de ácido fumárico-fumarato disódico, una mezcla de fumarato monosódico-fumarato disódico, etc.), amortiguadores de gluconato (por ejemplo, una mezcla de ácido glucónico-gluconato sódico, una mezcla de ácido glucónico-hidróxido de sodio, una mezcla de ácido glucónico-gluconato potásico, etc.), amortiguadores de oxalato (por ejemplo, una mezcla de ácido oxálico-oxalato sódico, una mezcla de ácido oxálico-hidróxido de sodio, una mezcla de ácido oxálico-oxalato potásico, etc.), amortiguadores de lactato (por ejemplo, una mezcla de ácido láctico-lactato sódico, una mezcla de ácido láctico-hidróxido de sodio, una mezcla de ácido láctico-lactato potásico, etc.) y amortiguadores de acetato (por ejemplo, una mezcla de ácido acético –acetato sódico, una mezcla de ácido acético-hidróxido de sodio, etc.). Adicionalmente, pueden mencionarse amortiguadores de fosfato, amortiguadores de histidina y sales de trimetilamina tales como Tris.

[00084] Preservantes pueden agregarse para retardar el crecimiento microbiano, y en cantidades que varían desde 0.2%-1% (p/v). Preservantes apropiados para uso con la presente invención incluyen fenol, alcohol bencílico, meta-cresol, metil parabeno, propil parabeno, cloruro de octadecildimetilbencil amonio, haluros de benzalconio (por ejemplo, cloruro, bromuro, yoduro), cloruro de

hexametonio, alquil parabenos tales como metil o propil parabeno, catecol, resorcinol, ciclohexanol, y 3-pentanol.

[00085] Isotonicificantes, conocidos a veces como "estabilizantes" pueden agregarse para garantizar la isotonicidad de las composiciones líquidas de la presente invención e incluyen alcoholes de azúcar polihídricos, preferiblemente alcoholes de azúcar trihídricos o superiores, tales como glicerina, eritritol, arabitól, xilitol, sorbitol y mannitol.

[00086] Los estabilizantes se refieren a una amplia categoría de excipientes que pueden variar en función desde un agente para impartir volumen hasta un aditivo, que solubiliza el agente terapéutico o ayuda a impedir la desnaturalización o adherencia a la pared del recipiente. Estabilizantes típicos pueden ser alcoholes de azúcar polihídricos (enumerados más arriba); aminoácidos tales como arginina, lisina, glicina, glutamina, asparagina, histidina, alanina, ornitina, L-leucina, 2-fenilalanina, ácido glutámico, treonina, etc., azúcares orgánicos o alcoholes de azúcar, tales como lactosa, trehalosa, estaquiosa, mannitol, sorbitol, xilitol, ribitol, mioinisol, galactitol, glicerol y similares, incluidos ciclitóles tales como inositol; polietilen glicol; polímeros de aminoácidos; agentes reductores con contenido de azufre, tales como urea, glutatión, ácido tióctico, tioglicolato sódico, tioglicerol, .alpha.-monotioglicerol y tiosulfato sódico; polipéptidos de bajo peso molecular (es decir, <10 residuos); proteínas tales como albúmina sérica humana, albúmina sérica bovina, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos, tales como monosacáridos de polivinilpirrolidona, tales como xilosa, mannososa, fructosa, glucosa; disacáridos tales como lactosa, maltosa, sacarosa y trisacáridos tales como rafinosa; polisacáridos tales como dextran. Stabilizers may be present in the range from 0.1 to 10,000 weights per part of weight active protein.

[00087] Tensioactivos no iónicos o detergentes (también conocidos como "agentes humectantes") pueden agregarse para ayudar a solubilizar el agente terapéutico, así como para proteger la proteína terapéutica contra agregación inducida por agitación, lo cual permite así mismo que la formulación se exponga a esfuerzo de superficie de cizalladura sin causar desnaturalización de la proteína. Tensioactivos no iónicos apropiados incluyen polusorbatos (20, 80, etc.), polioxámeros (184, 188 etc.), Pluronic.RTM.polióles, monoéteres de polioxietilen sorbitán (Tween.RTM.-20, Tween.RTM.-80, etc.). Tensioactivos no iónicos pueden

estar presentes en un rango de alrededor de 0.05 mg/ml a alrededor de 1.0 mg/ml, preferiblemente alrededor de 0.07 mg/ml a alrededor de 0.2 mg/ml.

[00088] Excipientes misceláneos adicionales incluyen agentes para impartir volumen, (por ejemplo, almidón), agentes quelantes (, por ejemplo, EDTA), antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico, metionina, vitamina E), y co-disolventes. La formulación contemplada en esta especificación puede contener igualmente más de un compuesto activo, según sea necesario, para la indicación particular que se está tratando, preferiblemente aquellos con actividades complementarias que no se afectan negativamente entre sí. Por ejemplo, puede ser deseable proveer además un agente inmunosupresor. Tales moléculas están convenientemente presentes en combinación en cantidades que son efectivas para los propósitos previstos. Los ingredientes activos pueden atraparse también en microcápsulas, preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de co-acervación o mediante polimerización interfacial, por ejemplo, MICROCÁPSULA DE hidroximetilcelulosa o gelatin y microcápsula de poli-(metilmetacilato), respectivamente, en sistemas coloidales de aplicación de medicamentos (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nano-partículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Tales técnicas se divulgan en Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, A. Osal.Ed. (1980).

[00089] Las formulaciones a usarse para administración *in vivo* tienen que ser estériles. Esto se obtiene fácilmente por filtración a través de membranas de filtración estériles. Pueden elaborarse preparaciones de liberación sostenida. Ejemplos apropiados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semi-permeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen la variante del anticuerpo, matrices que están en la forma de artículos moldeados, por ejemplo, películas, o microcápsulas. Ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli(2-hidroxietil-metacrilato), o poli(vinilalcohol)), poliláctidos (US 3773919), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma-etil-L-glutamato, etilen-vinil acetato no degradable, copolímeros degradables ácido láctico-ácido glicólico tales como el LUPRON DEPOT™ (microesferas inyectables compuestas de copolímero ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolida), y ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico. Aunque polímeros tales como etilen-vinil acetato y ácido láctico-ácido glicólico permiten la liberación de moléculas durante más de 100 días, ciertos hidrogeles liberan proteínas durante

454

períodos de tiempo más cortos. Cuando anticuerpos encapsulados permanecen en el cuerpo durante un tiempo prolongado, se pueden desnaturalizar o agregar como resultado de la exposición a humedad a 37°C, lo cual se traduce en una pérdida de actividad biológica y posibles cambios en inmunogenicidad. Estrategias racionales pueden diseñarse para la estabilización, dependiendo del mecanismo involucrado. Por ejemplo, si se descubre que el mecanismo de agregación es la formación de puentes S-S intermoleculares mediante intercambio tio-disulfuro, la estabilización puede lograrse modificando residuos sulfhidrilo, liofilizando a partir de soluciones ácidas, controlando el contenido de humedad, usando aditivos apropiados y desarrollando composiciones específicas de matriz polimérica.

[00090] La cantidad de polipéptido terapéutico, anticuerpo o fragmento del mismo, que será efectiva en el tratamiento de un trastorno o afección particular dependerá de la naturaleza del trastorno o afección, y puede determinarse por técnicas clínicas estándar. Donde sea posible, es deseable determinar la curva de respuesta a la dosis y las composiciones farmacéuticas de la invención primeramente *in vitro* y, luego, en sistemas de modelos animales útiles, antes de probarlas en humanos.

[00091] En una incorporación preferida, una solución acuosa del polipéptido terapéutico, anticuerpo o fragmento del mismo se administra mediante inyección subcutánea. Cada dosis puede variar desde alrededor de 0.5 µg a alrededor de 50 µg por kilogramo de peso corporal o, más preferiblemente, desde alrededor de 3 µg a alrededor de 30 µg por kilogramo de peso corporal.

[00092] La pauta posológica para administración subcutánea puede variar desde una vez al mes a diariamente, dependiendo de un número de factores clínicos, incluidos el tipo de enfermedad, la gravedad de la enfermedad y la sensibilidad del sujeto al agente terapéutico.

USOS PARA EL ANTICUERPO HUMANIZADO

[00093] Los anticuerpos humanizados de la presente invención son útiles en análisis de diagnóstico, por ejemplo, para detectar la expresión de una diana de interés en células específicas, tejidos o suero. Para aplicaciones de diagnóstico, la variante del anticuerpo se etiquetará típicamente con una fracción detectable. Se

2655

dispone de numerosas etiquetas. Técnicas para cuantificar un cambio en fluorescencia se describen más arriba. El sustrato quimioluminiscente se excita electrónicamente mediante una reacción química y puede emitir entonces luz, la cual puede medirse (usando un quimioluminómetro, por ejemplo) o dona energía a un aceptor fluorescente. Ejemplos de etiquetas enzimáticas incluyen luciferasas (por ejemplo, luciferasa de luciérnaga y luciferasa bacteriana; Patente de los Estados Unidos No. 4,737,456), luciferina, 2,3-dihidroftalazinadionas, malato dehidrogenasa, ureasa, peroxidasa tal como peroxidasa de rábano (HRPO – *horseradish peroxidase*), fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, glucoamilasa, lisozima, sacárido oxidasas (por ejemplo, glucosa oxidasa, galactosa oxidasa y glucosa-6-fosfato dehidrogenasa), oxidasas heterocíclicas (tales como uricasa y xantina oxidasa), lactoperoxidasa, microperoxidasa, y similares. Técnicas para conjugar enzimas a anticuerpos se describen en O'Sullivan et al., *Methods for the Preparation of Enzyme-Antibody Conjugates for Use in Enzyme Immunoassay*, in *Methods in Enzym.* (Ed. J. Langone & H. Van Vunakis), Academic press, New York, 73: 147-166 (1981).

[00094] A veces, la etiqueta se conjuga indirectamente con la variante del anticuerpo. El profesional experto tendrá conocimiento de varias técnicas para lograrlo. Por ejemplo, la variante del anticuerpo puede conjugarse con biotina, y cualquiera de las tres categorías amplias de etiquetas mencionadas más arriba puede conjugarse con avidina, o viceversa. La biotina se une selectivamente a avidina y, por consiguiente, la etiqueta puede conjugarse con la variante del anticuerpo en esta manera indirecta. Alternativamente, para lograr la conjugación indirecta de la etiqueta con la variante del anticuerpo, la variante del anticuerpo se conjuga con un pequeño hapteno (por ejemplo, digloxina) y uno de los diferentes tipos de etiquetas mencionadas más arriba se conjuga con una variante del anticuerpo anti-hapteno (por ejemplo, anticuerpo anti-digloxina). En consecuencia, puede obtenerse la conjugación indirecta de la etiqueta con la variante del anticuerpo.

[00095] En otra incorporación de la invención, la variante del anticuerpo no necesita etiquetarse, y su presencia puede detectarse usando un anticuerpo etiquetado que se une a la variante del anticuerpo.

[00096] Los anticuerpos de la presente invención pueden emplearse en

56

cualquier método de análisis conocido, tal como análisis de unión competitiva, análisis sandwich directos e indirectos, y análisis de inmunoprecipitación. Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, pp.147-158 (CRC Press, Inc. 1987).

[00097] Los análisis de unión competitiva se basan en la capacidad de un estándar etiquetado de competir con la muestra de prueba por la unión con una cantidad limitada de la variante del anticuerpo. La cantidad de diana en la muestra de prueba es inversamente proporcional a la cantidad de estándar que se une a los anticuerpos. Para facilitar la determinación de la cantidad que se une, los anticuerpos generalmente se insolubilizan antes o después de la competición. Como resultado el estándar y la muestra de prueba que se unen a los anticuerpos pueden separarse convenientemente del estándar y la muestra de prueba que quedaron sin unirse.

[00098] Análisis sandwich implican el uso de dos anticuerpos, cada uno capaz de unirse a una porción inmunógena diferente, o epítipo, o la proteína a detectarse. En un análisis sandwich, la muestra de prueba se une por un primer anticuerpo que se inmoviliza en un soporte sólido y, posteriormente, un segundo anticuerpo se une a la muestra de prueba, formando así un complejo insoluble de tres partes. Véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos No. 4,376,110. El segundo anticuerpo puede etiquetarse él mismo con una fracción detectable (análisis sandwich directos) o puede medirse usando un anticuerpo anti-inmunoglobulina que se etiqueta con una fracción detectable (análisis sandwich indirecto). Por ejemplo, un tipo de análisis sandwich es un análisis ELISA, en el cual la fracción detectable es una enzima.

[00099] Para inmunohistoquímica, la muestra del tumor puede ser fresca o congelada, o puede incrustarse en parafina y fijarse con un preservante tal como, por ejemplo.

[000100] Los anticuerpos pueden usarse también en análisis diagnósticos *in vivo*. Generalmente, la variante del anticuerpo se etiqueta con un radionúclido (tal como ^{111}In , ^{99}Tc , ^{14}C , ^{131}I , ^{125}I , ^3H , ^{32}P o ^{35}S), de modo que el tumor pueda localizarse usando inmunoescintigrafía. Por ejemplo, un anticuerpo anti-IgE de alta afinidad la presente invención puede utilizarse para detectar la cantidad de

IgE presente en, por ejemplo, los pulmones de un paciente asmático.

[000101] El anticuerpo de la presente invención puede suministrarse en un kit, es decir, una combinación empacada de reactivos en cantidades predeterminadas con instrucciones para llevar a cabo el análisis diagnóstico. Donde el anticuerpo está etiquetado con una enzima, el kit puede incluir sustratos y cofactores requeridos por la enzima (por ejemplo, un precursor sustrato que proporcione el cromóforo o fluoróforo detectable). Además, pueden incluirse otros aditivos tales como estabilizantes, amortiguadores (por ejemplo, un amortiguador de bloqueo o amortiguador de lisis) y similares. Las cantidades relativas de los diferentes reactivos pueden variarse ampliamente para permitir concentraciones en solución de los reactivos, que sustancialmente optimicen la sensibilidad del análisis. Particularmente, los reactivos pueden proporcionarse en la forma de polvos secos, usualmente liofilizados, incluidos excipientes que, al disolverse, suministrarán una solución de reactivos con la concentración apropiada.

USOS IN VIVO PARA EL ANTICUERPO

[000102] Se contempla que los anticuerpos de la presente invención puedan usarse para tratar un mamífero. En una incorporación, el anticuerpo se administra a un mamífero no humano para los propósitos de obtener datos preclínicos, por ejemplo. Mamíferos ejemplares no humanos a tratarse incluyen primates no humanos, perros, gatos, roedores y demás mamíferos en los cuales se realizan estudios preclínicos. Tales mamíferos pueden establecerse en modelos animales para una enfermedad a tratar con el anticuerpo o pueden usarse para estudiar la toxicidad del anticuerpo de interés. En cada una de estas incorporaciones, estudios de dosis escalonada pueden llevarse a cabo en el mamífero.

[000103] El anticuerpo o polipéptido se administra por cualquier medio apropiado, incluida la administración parenteral, subcutánea, intraperitoneal, intrapulmonar e intranasal y, si se desea para tratamiento inmunosupresor local, administración intralesional. Infusiones parenterales incluyen administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, o subcutánea. Además, la variante del anticuerpo se administra convenientemente mediante infusión de pulsación, particularmente con dosis decrecientes de la variante del anticuerpo. Preferiblemente, la posología se administra mediante inyecciones, muy

58

preferiblemente inyecciones intravenosas o subcutáneas, dependiendo en parte de si la administración es breve o crónica.

[000104] Para la prevención o tratamiento de enfermedad, la posología apropiada de anticuerpo o polipéptido dependerá del tipo de enfermedad a tratarse, la gravedad y ciclo de la enfermedad, si la variante del anticuerpo se administra con fines preventivos o terapéuticos, la terapia previa, la historia clínica del paciente y respuesta al anticuerpo, y la discreción del médico a cargo del paciente.

[000105] Dependiendo del tipo y gravedad de la enfermedad, alrededor de 0.1 µg/kg a 150 mg/kg (por ejemplo, 0.1-20 mg/kg) de anticuerpo es una posología candidata inicial para administración al paciente, ya sea, por ejemplo, por una o más administraciones separadas, o por infusión continua. Una posología diaria típica podría variar desde alrededor de 1 µg/kg a 100 mg/kg o más, dependiendo de los factores ya mencionados. Para administraciones repetidas durante varios días o más, dependiendo de la enfermedad, el tratamiento se sostiene hasta cuando ocurra una supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. El avance de esta terapia se monitorea fácilmente por técnicas y análisis convencionales. Un régimen posológico ejemplar se divulga en WO 94/04188.

[000106] Las composiciones de anticuerpo pueden formularse, dosificarse y administrarse en una manera consistente con la buena práctica médica. Factores a tenerse en cuenta en este contexto incluyen el trastorno particular que se está tratando, el mamífero particular que se está tratando, el estado clínico del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de aplicación del agente, el método de administración, la pauta de administración, y demás factores conocidos por los médicos. La "cantidad terapéuticamente efectiva" del anticuerpo a administrarse se regirá por tales consideraciones, y es la cantidad mínima necesaria para prevenir, mejorar o tratar una enfermedad o trastorno. El anticuerpo no necesita formularse, pero se formula opcionalmente con uno o más agentes corrientemente utilizados para prevenir o tratar el trastorno en cuestión. La cantidad efectiva de tales otros agentes depende de la cantidad de anticuerpo presente en la formulación, el tipo de trastorno o tratamiento, y demás factores discutidos más arriba. Aquellos se usan generalmente en las mismas dosificaciones y por vías de administración como las usadas hasta la fecha o alrededor de desde 1 a 99% de

59

las dosificaciones empleadas hasta ahora.

[000107] Los anticuerpos de la presente invención, que reconocen el Factor D como su diana, pueden usarse para tratar trastornos mediados por complemento. Estos trastornos están asociados con activación excesiva o incontrolada de complemento. Ellos incluyen: activación de complemento durante operaciones de bypass cardiopulmonar; activación de complemento debida a isquemia-reperfusión luego de infarto agudo del miocardio, aneurisma, apoplejía, choque hemorrágico, lesión por aplastamiento, insuficiencia multiorgánica, choque hipobolémico, isquemia intestinal u otros episodios causantes de isquemia. Se ha demostrado así mismo que la activación de complemento está asociada con enfermedades inflamatorias tales como quemaduras graves, endotoxemia, choque septicémico, síndrome disneico del adulto, hemodiálisis; choque anafiláctico, asma grave, angioedema, enfermedad de Crohn, anemia drepanocítica, glomerulonefritis pos-estreptocócica y pancreatitis. El trastorno puede ser el resultado de una reacción adversa a medicamentos, alergia por medicamentos, síndrome de fuga vascular inducida por IL-2 o alergia a medio de contraste radiográfico. Incluye además enfermedad autoinmunitaria tal como lupus eritematoso sistémico, miastenia grave, artritis reumatoide, enfermedad de Alzheimer y esclerosis múltiple. La activación de complemento se asocia igualmente con el rechazo de transplantes. La activación de complemento se asocia también con rechazo de transplantes. Recientemente se ha demostrado con una fuerte correlación entre la activación del complemento y las enfermedades oculares tales como degeneración macular relacionada con la edad, retinopatía diabética.

EJEMPLOS

[000108] Los siguientes ejemplos se ofrecen a modo de ilustración y no a modo de limitación.

Ejemplo 1: Humanización de MAb 166-32 Murino Factor D

[000109] Las secuencias de la región variable (V_H) de cadena pesada y la región variable (V_L) de cadena ligera del mAb 166-32 murino se compararon con secuencias de línea germinal del anticuerpo humano, disponibles en las bases de

datos públicas. Se utilizaron varios criterios al decidir una plantilla, como se describe en el paso 1 más arriba, incluidos la longitud total, posición CDR similar dentro de la estructura, homología general, tamaño de la CDR, etc. La totalidad de estos criterios tomado conjuntamente aportaron un resultado para elegir la plantilla humana óptima, como se muestra en la alineación de secuencias entre las secuencias de cadenas ligeras y cadenas pesadas de MAb 166-32 MAb y las secuencias de la plantilla humana respectiva ilustradas en Figuras 3 y 4.

[000110] En este caso, se empleó más de una plantilla de estructura humana para diseñar este anticuerpo. La plantilla humana elegida para la cadena V_H era una combinación de VI-4.1 b+ (locus 7-04.1) (acceso # X62110) (familia VH7) y JH4d (véase Figura 3). La plantilla humana elegida para la cadena V_L era una combinación de DPK4 (familia VK I) combinado con JK2 (véase Figura 4).

[000111] Una vez elegida la plantilla, se construyó una biblioteca Fab mediante síntesis de ADN y PCR traslapante. La biblioteca se componía de CDRs de MAb 166-32 sintetizadas con las respectivas plantillas humanas seleccionadas. Los nucleótidos traslapantes que codifican secuencias V_H y V_L parciales se sintetizaron en el rango de alrededor de 63 a alrededor de 76 nucleótidos con 18 a 21 traslapos de nucleótidos. Se construyeron vectores que expresan una biblioteca de Fabs humanizados contra el antígeno de Factor D, y se transformaron en *E. coli* DH10B luego se esparcieron sobre césped bacteriano XL-1B.

[000112] Se evaluó la calidad de la biblioteca en cuanto a tamaño (el número de clones independientes) y la diversidad (la distribución de las mutaciones). Los clones individuales con inserción doble de ambas cadenas ligeras y pesadas se secuenciaron alrededor de 14 de 20. Las mutaciones de titubeo ("**wobble mutations**") de la estructura se distribuyeron uniformemente.

[000113] La amplificación PCR del gen V_L y V_H se realizó utilizando un cebador directo ("**forward primer**") biotinilado que contenía la secuencia específica a la región de la estructura FR1 y una secuencia protuberante ("**overhanging sequence**") apareada al extremo de la secuencia líder (GenIII) y un cebador inverso de la región constante conservada (Ck o CH1) bajo condiciones PCR estándar. El producto PCR se purificó mediante electroforesis en

[Handwritten signature]
61

gel de agarosa, o mediante el kit de purificación PCR comercial para eliminar cebadores biotinilados no incorporados y PCR no específica.

EJEMPLO 2: Cribado de la Biblioteca

[000114] Se utilizó Transferencia con Filtro de Captura ("**Capture Filter Lift**") para el cribado primario. El cribado actual dimensionado es más de 3 veces más grande que el tamaño teórico de la biblioteca. Los candidatos se cribaron aún más mediante análisis ELISA de un solo punto. Los mejores ligantes ("**binders**") se confirmaron adicionalmente mediante titulación directa del antígeno usando el Factor D basándose en la concentración de Fab.

[000115] *Cribado con Transferencia de Captura*

[000116] Se empleó el Análisis de Transferencia con Filtro de Captura para el cribado primario de la unión de Fab al Factor D. Bacteriófagos de alta titulación se estrieron e incubaron a 37°C hasta el momento del uso (alrededor de 6-8 horas). Kappa anti-humano en cabra se diluyó a 10ug/ml en 10 ml PBST; se prepararon filtros de nitrocelulosa para placas de transferencia ("**lifting plaques**") de acuerdo con procedimientos estándar con placas de transferencia y luego se sumergieron en 10ml de amortiguador de bloqueo durante 2 horas en un agitador. Los filtros se enjugaron 3x con PBST. Los filtros se aplicaron a un césped de placa y se incubaron a temperatura ambiente (RT) durante aproximadamente 15-24 horas. A continuación se retiraron los filtros de las placas y se enjugaron con TBST 3x.

[000117] Factor D (50ug/ml) se diluyó en PBST a 0.1 ug/ml y se agregaron 4ml por filtro. Los filtros se incubaron en la solución durante 2 horas en un agitador a temperatura ambiente, seguido por enjuague 3x, cada vez 5 minutos. Se agregó 166-222-HRP diluido (1:10. 000 con PBST) en un volumen de 4 ml por filtro y los filtros se incubaron durante 1 hora en un agitador. Los filtros se enjugaron 4x. Los filtros se secaron y luego se sumergieron en sustrato TMB, seguido por inmersión en agua para detener la reacción. Se identificaron los clones positivos.

EJEMPLO 3: Cribado con ELISA de Punto Único

[000118] Se utilizó una análisis ELISA de punto único para el cribado

5/12/62

secundario. Placas Immulon II se recubrieron con Fab anti-humano en cabra (1:12.000, 50ul/pocillo) de un día para otro a temperatura ambiente. Al día siguiente las placas se lavaron 4x con lavador de placas. Se agregó amortiguador de bloqueo en un volumen de 100ul por pocillo y las placas se incubaron durante 1 hora a temperatura de la sala. Las placas se lavaron entonces 4x.

[000119] Cada Fab a cribarse se agregó en un volumen de 50ul por pocillo (o bien de la preparación periplasmática de 15ml o bien del sobrenadante) y se incubó 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavaron 4x, seguido por la adición de 50ul/pocillo de Factor D biotinilado a 0.01ug/ml. Las placas se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente y luego se lavaron 4x. Se agregó estreptavidina-HRP (1:10.000 en PBST) y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavaron 5x y luego se desarrollaron agregando sustrato TMB a 50ul/pocillo. Se agregó amortiguador de detención ("**stop buffer**") en un volumen de 50ul luego de estar bien desarrollada (10-45 minutos) y luego se leyeron las placas a 450nm.

Ejemplo 4: Secuenciación de clones de anti-Factor D humanizados

[000120] Se secuenciaron 16 clones humanizados con excelente afinidad de unión para el Factor D humano (véase Tabla 1). Entre éstos, la posición 2 (100% humano) y 49 (100% ratón) en la cadena ligera, y la posición 93 (100% ratón) en la cadena pesada son altamente conservadas, indicando que son importantes en mantener la capacidad de unión del anticuerpo.

Tabla 1. Análisis de secuencias de aminoácidos de clones humanizados de la biblioteca de humanización

VK	2	4	13	43	49	64	69	VH	2	9	38	93	97
Ratón	T	V	M	P	S	S	A		I	P	K	T	E
Humano	I	M	A	V	Y	G	T		V	S	R	V	A
7	I	M	M	V	S	S	T		I	P	K	V	E
30	I	V	A	V	S	S	A		V	P	K	T	E
45	I	V	M	V	S	G	A		I	S	R	V	E
46	I	V	M	V	S	S	T		I	S	R	V	E
47	I	V	A	V	S	S	T		I	S	R	V	E

54
63

48	I	V	M	V	S	S	T		V	P	R	V	E
50	I	V	M	V	S	G	A		V	P	R	T	E
51	I	M	M	V	S	G	T		I	S	K	T	E
56	I	V	A	V	S	G	T		V	P	K	T	E
57	I	M	M	V	S	S	A		V	S	R	V	E
58	I	V	M	P	S	G	A		V	P	R	V	E
59	I	V	A	P	S	S	T		V	P	K	V	E
60	I	V	M	P	S	G	T		V	P	R	V	E
63	I	V	M	V	S	S	T		V	S	R	T	E
74	I	V	M	V	S	S	T		I	S	R	V	E

[000121] El clon #56 se evaluó mediante análisis BIAcore y análisis de inhibición hemolítico. El análisis BIAcore mostró que el clon #56 tiene una afinidad similar al Factor D humano que el Fab 166-32 quimérico (véase Tabla 4). El análisis de inhibición hemolítico mostró que el clon #56 es en cierta forma más potente que el Fab 166-32 quimérico (véase Figura 6). El clon # 56 contiene dos residuos murinos en la estructura de cadena ligera y cuatro residuos murinos en la cadena pesada, (véase Tabla 1). Basándose en estos resultados, se llevó a cabo una optimización posterior.

Tabla 2. Análisis de secuencias de aminoácidos de anticuerpos optimizados de la biblioteca de humanización/optimización de CDR3s

Posiciones VK	2	4	13	43	49	64	69	CDR-L3	92	93	97	
166-32	T	V	M	P	S	S	A		D	N	T	
Plantilla Humana	I	M	A	V	Y	G	T					
104	I	V	M	P	S	S	T		D	S	T	
109	I	V	A	V	S	G	A		M	N	T	
111	I	V	A	V	S	G	T		D	S	T	
112	I	V	A	V	S	G	T		D	S	T	
114	I	V	A	V	S	G	T		D	C	T	
121	I	V	A	V	S	S	A		D	N	T	
125	I	V	A	P	S	S	T		D	N	T	
130	I	V	A	V	S	S	T		D	N	S	

64

Posiciones VH	2	9	38	93	97	CDR-H3	98	99	100
166-32	I	P	K	T	E		V	D	N
Plantilla Humana	V	S	R	V	A				
104	V	S	R	V	E		V	D	T
109	V	S	R	V	E		V	N	N
111	V	S	R	V	E		V	N	N
112	V	S	R	V	E		V	N	N
114	V	S	K	V	E		V	N	N
121	I	S	R	V	E		V	N	T
125	V	S	R	V	E		P	D	N
130	V	S	R	V	E		V	D	H

[000122] Los clones #111 y #114 se caracterizaron mediante análisis BIAcore (véase Tabla 4). Los clones #104, #111, #114 y #130 se caracterizaron así mismo mediante análisis de inhibición hemolítico (véase Figura 6). Estos clones tienen afinidades más elevadas que el 166-32 quimérico, y son más potentes que el Fab quimérico en inhibir la vía alternativa, como se muestra por el análisis de inhibición hemolítico (Figura 7). El clon #111 contiene los mismos dos residuos murinos en la cadena ligera (posiciones 4 y 49) que el clon # 56. Contiene igualmente el residuo murino conservado en la posición 97 de la cadena pesada que se encuentra en el clon #56. Hay una mutación benéfica en las dos CDR3 de cadenas ligeras y pesadas en el clon #111. De dos bibliotecas independientes cribadas (biblioteca de humanización, y biblioteca de humanización /optimización de CDR3s), descubrimos que los mejores clones tienen residuos de consenso similares.

[000123] Para optimizar aún más la afinidad del clon #111, se construyó una biblioteca de anticuerpos introduciendo mutaciones individuales en las CDR-H1 y CDR-L2 simultáneamente. En síntesis, se empleó la metodología de mutagénesis dirigida al sitio para construir tales bibliotecas apareando oligonucleótidos que codifican mutaciones individuales a la plantilla del clon #111. Se secuenciaron un total de 24 clonas con muy alta afinidad al Factor D humano. Entre estos 24 clones, se identificaron varias mutaciones benéficas redundantes. Los clones #250, #315, #345 y #416 se seleccionaron mediante análisis BIAcore (véase Tabla 4). Los datos BIAcore mostraron que estos clones tienen una mayor afinidad al

86
65

Factor D humano que el clon inicial #111. Los clones #250, #315, #348 y #416 se probaron igualmente en el análisis de inhibición hemolítico (véase Figura 6) e inhibición de la vía alternativa (Figura 7).

Ejemplo 5: Análisis de Hemólisis AP

[000124] Se determinó la función biológica de los clones humanizados utilizando el análisis de inhibición hemolítico y el análisis BIAcore (véase Ejemplo 6 a continuación). El análisis hemolítico se llevó a cabo de acuerdo con el siguiente procedimiento. 20 ul de glóbulos rojos de conejo diluidos 1:20 (RRBC - *rabbit red blood cells*) (0.5 ml + 9.5 ml amortiguador GVB/Mg-EGTA) en 20 ml de solución salina (0.9% NaCl) con una dilución de aproximadamente 1: 2×10^4 se contaron con un contador Coulter. A continuación se ajustó la concentración de las células a alrededor de $2-5 \times 10^4$ células/ml. Cada placa recibió alrededor de 500×10^6 /RRBC o alrededor de 1 ml RRBC/placa ($500 \times 10^6 / 2-5 \times 10^4$).

[000125] Las células se diluyeron en 6 ml amortiguador GVB/Mg-EGTA/placa, se mezclaron y se lavaron 3 veces agitando a 1360 rpm x 4 minutos a 4 °C. El sedimento celular RRBC se suspende en 3 ml amortiguador GVB/Mg-EGTA/placa y se conservó en hielo.

[000126] Suero humano congelado -80°C se descongeló justo antes del uso. El suero se diluyó a una concentración de 20% suero en amortiguador GVB/Mg-EGTA, 5 ml/placa (final es 10%) y se mantuvo en hielo.

Tabla 3

	1	2	3	S	SB
GVB/Mg-EGTA:	50 ul	50 ul	50 ul	50 ul	50 ul
mAb: 50 ul mix	50 ul	50 ul	50 ul	-----	-----
20% suero humano:	50 ul	50 ul	50 ul	50 ul	50 ul
Agitar 30 segundos a 5-6°, mantener luego a temperatura ambiente durante 7 minutos					
RBC de conejo:	30 ul	30 ul	30 ul		30 ul

Handwritten signature and initials.

[000127] Las muestras se agitaron durante 30 segundos a 5-6°C y luego durante 40 minutos a 37 °C. Se enfriaron las muestras a 5-6°C agitando simultáneamente y luego se centrifugaron a 2.000 rpm x 3 minutos a 4 °C. Aproximadamente 80 ul de sobrenadante se transfirieron a una placa de 96 pocillos de fondo plano y se leyó el valor OD a 590 nm usando un lector de placas estándar. La inhibición porcentual se calculó en la siguiente forma: % Inhibición = $\{[(S-SB) - (U-SB)] / (S-SB)\} \times 100\%$. (U = muestra 1, 2 o 3 (columnas 1, 2 o 3 de Tabla 3, respectivamente).

Ejemplo 6: Análisis Cinético del Fab de Factor D anti-Humano mediante BiaCore

[000128] *Immobilización* – Factor D humano (Advanced Research Inc, 0.1 mg/ml) se inmovilizó directamente en la matriz ("**chip**") CM5 (BiaCore) empleando el método de acoplamiento con amina. El procedimiento se describe brevemente como el siguiente: (1) Flujo constante (PBS) es a 5 µl/min. (2) Inyección de 35 µl EDC/NHS (1:1). (3) Inyección de 35 µl de Factor D humano en amortiguador de acetato, pH 4.5. (4) Bloquear el grupo activado mediante inyección de 35 µl etolamina. (5) Limpiar la superficie por 5 µl 10 mM Glicina pH 1.5. El nivel de inmovilización del ligando (Factor D humano) es de alrededor de 1.000 RU. El ciclo de la prueba empleando un Factor D α-humano (huDi, 40 µl, 31.5 µg/ml) arrojó una respuesta relativa alrededor de 900 RU.

[000129] *Análisis Cinético* – Todos los Fabs de Factor D anti-humano se diluyeron en amortiguador PBS. Cada muestra se preparó en una serie de concentraciones: 12.5 nM, 25 nM, 50 nM, 75nM, 100 nM, 125 nM, y 150 nM, con pulsación de inyección de 40 µl con una alta tasa de adquisición. Se llevó a cabo regeneración aplicando una pulsación de 5 µl de 10 mM glicina a pH 1.5. Se obtuvieron parámetros cinéticos ajustando trazas de unión de Fabs a un modelo de unión 1:1 bajo seudo cinética de primer orden usando Factor D de versión BIAevaluation.

Tabla 4 Resultados BIAcore

67

Clon Fab	ka (M-1s-1)	kd (s-1)	Kd (M)
Anti-factor D Fab 315	7.1x10 ⁵	2.7x10 ⁻⁴	3.7x10 ⁻¹⁰
Anti-factor D Fab 416	8.2x10 ⁵	1.8x10 ⁻⁴	3.3x10 ⁻¹⁰
Anti-factor D Fab 345	6.8x10 ⁵	3.5x10 ⁻⁴	5.1x10 ⁻¹⁰
Anti-factor D Fab 250	5.7x10 ⁵	1.9x10 ⁻⁴	3.3x10 ⁻¹⁰
Anti-factor D Fab 56	3.6x10 ⁵	9.8x10 ⁻⁴	2.7x10 ⁻⁹
Quimérico	4.4x10 ⁵	1.2x10 ⁻³	2.7x10 ⁻⁹
Anti-factor D Fab 111	3.3x10 ⁵	3.7x10 ⁻⁴	1.14x10 ⁻⁹

[000130] Los expertos en el arte reconocerán, o estarán en capacidad de verificar, empleando no más que experimentación rutinaria, muchos equivalentes de las incorporaciones específicas de la invención descritas en esta especificación. Se pretende que tales equivalentes queden abarcados por las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES DIVISIONAL



1. Un dominio variable de un anticuerpo humanizado que comprende una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena pesada seleccionada del grupo conformado por: SEQ ID NO: 6; SEQ ID NO: 8; SEQ ID NO: 10; y SEQ ID NO: 12.
2. Un dominio variable de un anticuerpo humanizado que comprende una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera seleccionada del grupo conformado por SEQ ID NO: 5; SEQ ID NO: 7; SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 11.
3. Un anticuerpo anti-Factor D humanizado que comprende la secuencia de dominio variable de SEQ ID NO: 5 y la secuencia de dominio variable en SEQ ID NO: 6.
4. Un anticuerpo anti-Factor D humanizado que comprende la secuencia de dominio variable de SEQ ID NO: 7 y la secuencia de dominio variable en SEQ ID NO: 8.
5. Un anticuerpo anti-Factor D humanizado que comprende la secuencia de dominio variable de SEQ ID NO: 9 y la secuencia de dominio variable en SEQ ID NO: 10.
6. Un anticuerpo anti-Factor D humanizado que comprende la secuencia de dominio variable de SEQ ID NO: 11 y la secuencia de dominio variable en SEQ ID NO: 12.
7. Un anticuerpo anti-Factor D humanizado, que tiene una cadena ligera variable que comprende una CDR-L1 que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 16; una CDR-L2 que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 17, 21, o 23, y una CDR-L3 que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 18, 22 o 24.

60
69

8. Un anticuerpo anti-Factor D humanizado que tiene una cadena pesada variable que comprende una CDR-H1 que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 13 o 25; una CDR-H2 que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 14; y una CDR-H3 que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 15 o 20.
9. Un polipéptido que comprende la siguiente secuencia de aminoácidos:
QX₁QLVQSGX₂E LKKPGASVKV SCKASGYTFT
SYGMNWVX₃QA PGQGLEWMGW
INTYTGETTYADDFKGRFVF SLDTSVSTAY LQISSLKAED
TAX₄YYCX₅REG GVN₁NWGQGT₁L VTVSS (SEQ ID NO: 27),
en donde X₁ es I o V; X₂ es P o S; X₃ es K o R; X₄ es T o V; y X₅ es E o A.
10. Un polipéptido que comprende la siguiente secuencia de aminoácidos:
DIQX₆TQSPSSLX₇SVGDRVTITCITSTDIDDDMNWYQQKPGKX
₈PKLLIX₉DGNTLRPGVPSRFSX₁₀SGSGX₁₁DFTLTIS₁SLQPEDVAT
YYCLQSDSLPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 26),
en donde X₆ es V o M; X₇ es M o A; X₈ es P o V; X₉ es S o Y; X₁₀ es S o G y X₁₁ es A o T.
11. Un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, 8, 10, o 12.
12. Un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, 7, 9, o 11.
13. Un anticuerpo humanizado que comprende el polipéptido de la reivindicación 9.
14. El anticuerpo humanizado de la reivindicación 13 que comprende además el polipéptido de la reivindicación 10 o 28.
15. Un fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, 13-14, 26 o 27.

67
70

16. Un ácido nucleico aislado que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 3.
17. Un ácido nucleico aislado que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 4.
18. Un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, 13-14, 26 o 27.
19. Un ácido nucleico aislado que codifica el polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12.
20. Un vector que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 18.
21. Un vector que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 19.
22. Una línea celular que comprende el vector de la reivindicación 20 o 21.
23. Una composición que comprende el anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, 13 o 14.
24. Uso de la composición de la reivindicación 23 para tratar trastornos mediados por complemento.
25. El uso de acuerdo con la reivindicación 24, en donde el trastorno es una enfermedad ocular tal como degeneración macular relacionada con la edad o retinopatía diabética.
26. Un dominio variable de la reivindicación 2 en donde el aminoácido en la posición 104 de SEQ ID NO: 7 es una valina o una leucina.
27. Un anticuerpo anti-Factor D humanizado de la reivindicación 4 que comprende la secuencia de dominio variable de SEQ ID NO: 7 en donde el aminoácido en la posición 104 de SEQ ID NO: 7 es una valina o una leucina y la secuencia de dominio variable de SEQ ID NO: 8.

62
471

28. Un polipéptido de la reivindicación 10 en donde el aminoácido en la posición 104 de SEQ ID NO: 26 es una valina o una leucina.
29. Un polipéptido de la reivindicación 12 en donde el aminoácido en la posición 104 de SEQ ID NO: 7 es una valina o una leucina.
30. El método de elaborar un anticuerpo anti-Factor D humanizado o su fragmento de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, 13-14, 26 o 27.
31. Un anticuerpo que compite con el anticuerpo 166-32 murino y/o el clon del anticuerpo anti-Factor D humanizado #56, #111, #250 o #416 y/o un anticuerpo que comprende el dominio variable o las secuencias HVR del clon del anticuerpo anti-Factor D humanizado #56, #111, #250 o #416.
32. Un anticuerpo que se une al mismo epítipo que el anticuerpo 166-32 murino y/o el clon del anticuerpo anti-Factor D humanizado #56, #111, #250 o #416 y/o un anticuerpo que comprende el dominio variable o las secuencias HVR del clon del anticuerpo anti-Factor D humanizado #56, #111, #250 o #416.

67
72

FIGURA 1A

Secuencia de Aminoácidos de la Cadena Pesada Variable del MAb 166-32
Murino

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINT
YTGETTYADDFKGRFVFSLETSASTAYLEINNLLKNEDMATYFCEREGGVNDWG
QGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1)

FIGURA 1B

Secuencia de Aminoácidos de la Cadena Ligera Variable del MAb 166-32
Murino

ETTVTQSPASLSMAIGEKVTIRCITSTDIDDDMNWYQQKPGEPKLLISGGNTLR
PGVPSRFSSSGYGADVFVTIDNMLSEVDVYYCLQSDNLPYTFGGGTRLEIK
(SEQ ID NO: 2)

64
13

FIGURA 2A

Secuencia de Ácido Nucleico Murino para la Región Variable de Cadena Pesada del MAb 166-32

CAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACA
GTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGA
ACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAA
ACACCTACACTGGAGAGACAACATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGTTTGT
CTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAGCACTGCCTATTTGGAGATCAACAACCTCA
AAAATGAGGACATGGCTACATATTTCTGTGAAAGAGAGGGGGGGGTTGACAA
CTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 3)

FIGURA 2B

Secuencia de Ácido Nucleico Murino para la Región Variable de Cadena Ligera del MAb 166-32

GAAACAACTGTGACCCAGTCTCCTGCATCCCTGTCCATGGCTATAGGAGAAAA
AGTCACCATCAGATGCATAACCAGCACTGATATTGATGATGATATGAACTGGT
ACCAGCAGAAGCCAGGGGAACCTCCTAAGCTCCTTATTTCAAGGAGGCAATACT
CTTCGTCCTGGAGTCCCATCCCGATTCTCCAGCAGTGGCTATGGTGCAGATTTT
GTTTTTACAATTGACAACATGCTCTCAGAAGATGTTGCAGATTACTACTGTTTG
CAAAGTGATAACTTGCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAGGCTGGAAATAA
AA (SEQ ID NO: 4)

FIGURA 3 Comparación de la Plantilla de Cadena Pesada Humana con el MAb 166-32 Murino

Mu 166-32
 Hu VI-4.1b+

1 10 20 30 40
 Q I Q L V Q S G P E L K K P G E T V K I S C K A S G Y T F T N Y G M N W V R Q A P G K G L K W M G
 V S A S V G Y T F T S Y A M N R Q

Mu 166-32
 Hu VI-4.1b+

50 52 a 53 60 65 70 80 82 a b c 83 90
 W I N T Y T G E T T Y A D D F K G R F V F S L E T S A S T A Y L E I N N L K N E D M A T Y F C E R
 W I N T N T G N P T Y A Q G F T G D V Q S S A T V Y A

Mu. 166-32
 Hu VI-4.1b+

95 103 110 113
 E G G V D N W G Q G T T L T V S S
 Y F D Y L V (JH4d)

10

2

4/11

25

100
Mu. 166-32 T F G G G T R L E I K
HUtemp JK2 T Q K (JK2)

67
76

FIGURA 5

#56 VK
DIQVTQSPSSLSASVRDRVITITCitsdiddmnWYQQKPGKVPKLLISgntlrpGVPSRFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDVATYYClgsdnlpytFGQGTKLEIK

#56 VH
QVQLVQSGPELKKPGASVKVSCKASgyftlnvgmnWVKQAPGQGLEwmqwintytgettyaddfkGRFVF
SLDTSVSTAYLQISSLKAEDTATYYCERegqvnnWGQGTLVTVSS

#111 VK
DIQVTQSPSSLSASVGDRVITITCitsdiddmnWYQQKPGKVPKLLISgntlrpGVPSRFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDVATYYClgsdnlpytFGQGTKLEIK

#111 VH
QVQLVQSGPELKKPGASVKVSCKASgyftlnvgmnWVRQAPGQGLEwmqwintytgettyaddfkGRFVF
SLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCERegqvnnWGQGTLVTVSS

#250 VK
DIQVTQSPSSLSASVGDRVITITCitsdiddmnWYQQKPGKVPKLLIShgntlrpGVPSRFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDVATYYClgsdnlpytFGQGTKLEIK

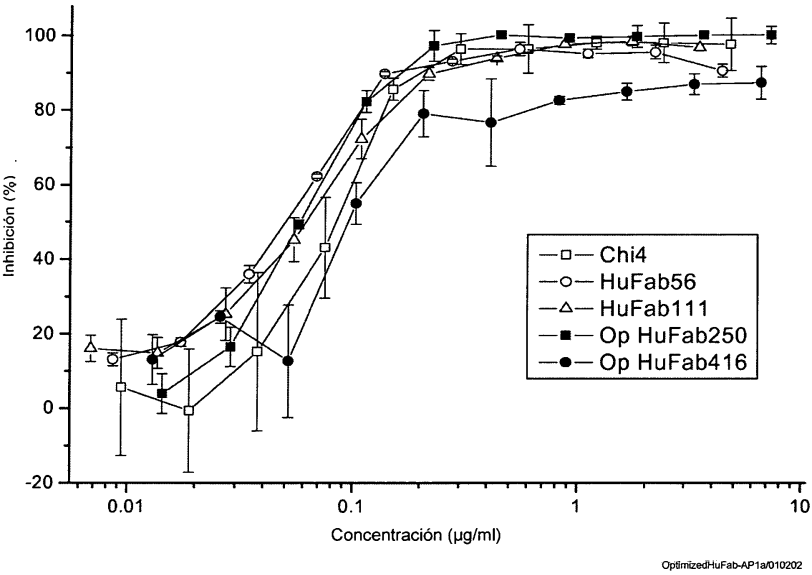
#250 VH
QVQLVQSGPELKKPGASVKVSCKASgyftlnvglnWVRQAPGQGLEwmqwintytgettyaddfkGRFVFS
LDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCERegqvnnWGQGTLVTVSS

#416 VK
DIQVTQSPSSLSASVGDRVITITCitsdiddmnWYQQKPGKVPKLLISdgntlrpGVPSRFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDVATYYClgsdnlpytFGQGTKLEIK

#416 VH
QVQLVQSGPELKKPGASVKVSCKASgyftsvqmnWVRQAPGQGLEwmqwintytgettyaddfkGRFVF
SLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCERegqvnnWGQGTLVTVSS

FIGURA 6

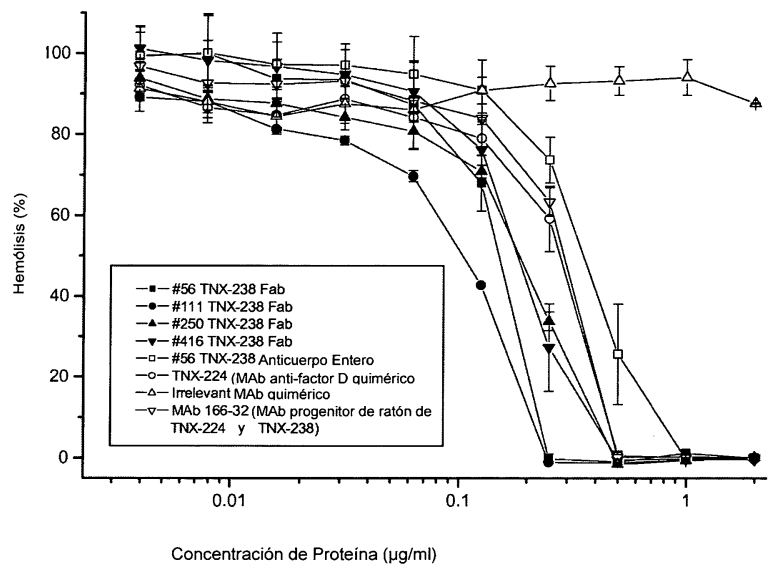
Anti-FD HuFabs Optimizados Inhiben Hemólisis AP



Handwritten signature

FIGURA 7

Inhibición de la Actividad de Complemento Alternativa de Suero Humano por
Diferentes Constructos Fab Humanizados TNX-238 en Análisis Hemolítico



HuFabAP1/2.28.03

7/11

Handwritten signature

FIGURA 8A

I					
A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC	KASGYTFT	-HI-	WVRQAPGQGLBWMG	-H2-
B	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC	KAS	-HI-	WVRQAPGQGLBWM	-H2-
C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC	KAS	-HI-	WVRQAPGQGLEWM	-H2-
D	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC	KAS	-HI-	WVRQAPGQGLEWM	-H2-
II					
A	QVQLQESGPGLVKPSQTL	SLTCTVSGGSVS	-HI-	WIRQPPGKGLEWIG	-H2-
B	QVQLQESGPGLVKPSQTL	SLTCTVS	-HI-	WIRQPPGKGLEWI	-H2-
C	QVQLQESGPGLVKPSQTL	SLTCTVS	-HI-	WIRQPPGKGLEWI	-H2-
D	QVQLQESGPGLVKPSQTL	SLTCTVS	-HI-	WIRQPPGKGLEWI	-H2-
III					
A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTFS	-HI-	WVRQAPGKGLEWVS	-H2-
B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS		-HI-	WVRQAPGKGLEWV	-H2-
C	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS		-HI-	WVRQAPGKGLEWV	-H2-
D	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS		-HI-	WVRQAPGKGLEWV	-H2-
VII					
A	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC	KASGYTFT	-HI-	WVRQAPGQGLEWMG	-H2-
B	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC	KAS	-HI-	WVRQAPGQGLEWM	-H2-
C	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC	KAS	-HI-	WVRQAPGQGLEWM	-H2-
D	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC	KAS	-HI-	WVRQAPGQGLEWM	-H2-
Acceptor					
A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFNIK	-HI-	WVRQAPGKGLEWVS	-H2-
B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS		-HI-	WVRQAPGKGLEWV	-H2-
C	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS		-HI-	WVRQAPGKGLEWV	-H2-
Segundo Acceptor					
A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFNIK	-HI-	WVRQAPGKGLEWVS	-H2-
B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS		-HI-	WVRQAPGKGLEWV	-H2-
C	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS		-HI-	WVRQAPGKGLEWV	-H2-
D	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS		-HI-	WVRQAPGKGLEWV	-H2-

h4

FIGURA 8B

RVTITADTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC		-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 28
RVTITADTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC	R	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 29
RVTITADTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC	A	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 30
RVTITADTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC	C	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 31
RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC		-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 32
RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC	R	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 33
RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC	A	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 34
RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC	C	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 35
RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC		-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 36
RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	R	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 37
RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	A	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 38
RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC	C	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 39
RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYC		-H3-	W G Q G T S L T V S S	SEQ ID NO: 55
RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYC	R	-H3-	W G Q G T S L T V S S	SEQ ID NO: 56
RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYC	A	-H3-	W G Q G T S L T V S S	SEQ ID NO: 57
RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYC	C	-H3-	W G Q G T S L T V S S	SEQ ID NO: 58
RFTISADTISKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC	R	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 40
RFTISADTISKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC	R	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 41
RFTISADTISKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC	S	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 42
RFTISADTISKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC		-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 43
RFTISADTISKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC	R	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 44
RFTISADTISKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC	A	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 45
RFTISADTISKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC	C	-H3-	W G Q G T L V T V S S	SEQ ID NO: 46

27

FIGURA 9A

xy1 D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C -L1- W Y Q Q K P G K A P K L L I Y -L2- G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P

xy2 D I V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C -L1- W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y -L2- G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A

xy3 E I V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C -L1- W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y -L2- G I P D R F S G S G S G T D F T L T I S R L E P

xy4 D I V M T Q S P D S L A V S L G E R A T I N C -L1- W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y -L2- G V P D R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q A

Handwritten signature or initials.

FIGURA 9B

EDFATYYC-L3-FGQGTKVEIK SEQ ID NO: 47

EDVGYYC-L3-FGQGTKVEIK SEQ ID NO: 48

EDFAVYYC-L3-FGQGTKVEIK SEQ ID NO: 49

EDVAVYYC-L3-FGQGTKVEIK SEQ ID NO: 50

[Handwritten signature]

Handwritten signature or mark in the top right corner.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Genentech, Inc.
WU, Herren
SINGH, Sanjaya
FUNG, Sek Chung
AN, Ling-Ling
LOWMAN, Henry B.
KELLEY, Robert F.

<120> ANTICUERPOS ANTI-FACTOR D HUMANIZADOS

<130> P4028R1 WO

<150> US 60/856,505
<151> 2006-11-02

<160> 58

<170> PatentIn version 3.4

<210> 1
<211> 115
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> DOMINIO DE CADENA PESADA VARIABLE DE MAB 166-32

<400> 1

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95

Handwritten signature and number 84

Glu Arg Glu Gly Gly Val Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 107
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> DOMINIO DE LA CADENA LIGERA VARIABLE DE MAB 166-32

<400> 2

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

Glu Lys Val Thr Ile Arg Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp
20 25 30

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

Ser Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Ser
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Ala Asp Phe Val Phe Thr Ile Asp Asn Met Leu Ser
65 70 75 80

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

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

<210> 3
<211> 345
<212> DNA
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> DOMINIO DE CADENA PESADA VARIABLE DE MAB 166-32

<400> 3

cagatccagt tgggtgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60

76
x5

tcctgcaagg cttctgggta taccttcaca aactatggaa tgaactgggt gaagcaggct 120
ccaggaaagg gtttaaagtg gatgggctgg ataaacacct acactggaga gacaacatat 180
gctgatgact tcaagggacg gtttgtcttc tctttggaaa cctctgccag cactgcctat 240
ttggagatca acaacctcaa aaatgaggac atggctacat atttctgtga aagagagggg 300
ggggttgaca actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca 345

<210> 4
<211> 321
<212> DNA
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> DOMINIO DE CADENA LIGERA VARIABLE DE MAB 166-32

<400> 4
gaaacaactg tgaccagtc tcctgcatcc ctgtccatgg ctataggaga aaaagtcacc 60
atcagatgca taaccagcac tgatattgat gatgatatga actggtacca gcagaagcca 120
ggggaacctc ctaagctcct tatttcagga ggcaatactc ttcgtcctgg agtcccatcc 180
cgattctcca gcagtggcta tggtcgagat ttgttttta caattgacaa catgctctca 240
gaagatgttg cagattacta ctgtttgcaa agtgataact tgccgtacac gttcggaggg 300
gggaccaggc tggaataaaa a 321

<210> 5
<211> 107
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> DOMINIO DE CADENA LIGERA VARIABLE DE HUMANIZED CLONE #56

<400> 5

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp
20 25 30

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

.. .:

~~Handwritten signature~~
86

Ser Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 6
<211> 115
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> DOMINIO DE CADENA PESADA VARIABLE DE HUMANIZED CLONE #56

<400> 6

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Glu Arg Glu Gly Gly Val Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

Handwritten signature and number 87

<210> 7
<211> 107
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> DOMINIO DE CADENA LIGERA VARIABLE DE HUMANIZED CLONE #111

<400> 7

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp
 20 25 30

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

Ser Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 8
<211> 115
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> DOMINIO DE CADENA PESADA VARIABLE DE HUMANIZED CLONE # 111

<400> 8

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30

.. .;

Handwritten signature/initials

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Glu Arg Glu Gly Gly Val Asn Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 9
<211> 107
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> DOMINIO DE CADENA LIGERA VARIABLE DE HUMANIZED CLONE #250

<400> 9

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp
20 25 30

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

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

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

82
84

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

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

<210> 10
<211> 115
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> DOMINIO DE CADENA PESADA VARIABLE DE HUMANIZED CLONE #250

<400> 10

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Glu Arg Glu Gly Gly Val Asn Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 11
<211> 107
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>

8/10

<223> DOMINIO DE CADENA LIGERA VARIABLE DE HUMANIZED CLONE #416

<400> 11

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 12

<211> 115

<212> PRT

<213> ARTIFICIAL

<220>

<223> DOMINIO DE CADENA PESADA VARIABLE DE HUMANIZED CLONE #416

<400> 12

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

.. . .


41

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Glu Arg Glu Gly Gly Val Asn Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 13
<211> 10
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> CDR-H1 DE MAB 166-32

<400> 13

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn
1 5 10

<210> 14
<211> 19
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> CDR-H2 DE MAB 166-32

<400> 14

Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr Ala Asp
1 5 10 15

Asp Phe Lys

<210> 15
<211> 6
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>

13
42

<223> CDR-H3 DE MAB 166-32

<400> 15

Glu Gly Gly Val Asp Asn
1 5

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> ARTIFICIAL

<220>

<223> CDR-L1 DE MAB 166-32

<400> 16

Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp Met Asn
1 5 10

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> ARTIFICIAL

<220>

<223> CDR-L2 DE MAB 166-32

<400> 17

Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro
1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> ARTIFICIAL

<220>

<223> CDR-L3 DE MAB 166-32

<400> 18

Leu Gln Ser Asp Asn Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 19

<211> 9

<212> PRT

<213> ARTIFICIAL

<220>

86
43

<223> CDR-L3 DE CLON HUMANIZADO #111

<400> 19

Leu Gln Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 20

<211> 6

<212> PRT

<213> ARTIFICIAL

<220>

<223> CDR-H3 DE CLON HUMANIZADO #111

<400> 20

Glu Gly Gly Val Asn Asn
1 5

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> ARTIFICIAL

<220>

<223> CDR-L2 DE CLON HUMANIZADO #250

<400> 21

His Gly Asn Thr Leu Arg Pro
1 5

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> ARTIFICIAL

<220>

<223> CDR-L3 DE CLON HUMANIZADO #250

<400> 22

Leu Gln Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 23

<211> 10

<212> PRT

<213> ARTIFICIAL

<220>

85
94

<223> CDR-H1 DE CLON HUMANIZADO #250

<400> 23

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Leu Asn
1 5 10

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> ARTIFICIAL

<220>

<223> CDR-L2 DE CLON HUMANIZADO #416

<400> 24

Asp Gly Asn Thr Leu Arg Pro
1 5

<210> 25

<211> 10

<212> PRT

<213> ARTIFICIAL

<220>

<223> CDR-H1 DE CLON HUMANIZADO #416

<400> 25

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Met Asn
1 5 10

<210> 26

<211> 107

<212> PRT

<213> ARTIFICIAL

<220>

<223> COMPUESTO DE CADENA LIGERA VARIABLE DE CLON HUMANIZADO

<220>

<221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa puede ser cualquier ocurrencia de aminoácido naturalmente

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa puede ser cualquier ocurrencia de aminoácido naturalmente

<220>

76
43

<221> misc_feature
<222> (43)..(43)
<223> Xaa puede ser cualquier ocurrencia de aminoácido naturalmente

<220>
<221> misc_feature
<222> (49)..(49)
<223> Xaa puede ser cualquier ocurrencia de aminoácido naturalmente

<220>
<221> misc_feature
<222> (64)..(64)
<223> Xaa puede ser cualquier ocurrencia de aminoácido naturalmente

<220>
<221> misc_feature
<222> (69)..(69)
<223> Xaa puede ser cualquier ocurrencia de aminoácido naturalmente

<400> 26

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp
20 25 30

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

Xaa Asp Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Xaa
50 55 60

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

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

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

<210> 27
<211> 115
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> COMPUESTO DE CADENA PESADA VARIABLE DE CLON HUMANIZADO

.

46

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa puede ser cualquier ocurrencia de aminoácido naturalmente

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> Xaa puede ser cualquier ocurrencia de aminoácido naturalmente

<220>
<221> misc_feature
<222> (38)..(38)
<223> Xaa puede ser cualquier ocurrencia de aminoácido naturalmente

<220>
<221> misc_feature
<222> (93)..(93)
<223> Xaa puede ser cualquier ocurrencia de aminoácido naturalmente

<220>
<221> misc_feature
<222> (97)..(97)
<223> Xaa puede ser cualquier ocurrencia de aminoácido naturalmente

<400> 27

Gln Xaa Gln Leu Val Gln Ser Gly Xaa Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Xaa Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Xaa Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Xaa Arg Glu Gly Gly Val Asn Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

.

88
41

Val Ser Ser
115

<210> 28
<211> 87
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 28

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Trp Val
20 25 30

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Val Thr Ile
35 40 45

Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu
50 55 60

Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly
65 70 75 80

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
85

<210> 29
<211> 81
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 29

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
20 25 30

68

Gln Gly Leu Glu Trp Met Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr
35 40 45

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
65 70 75 80

Ser

<210> 30
<211> 80
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 30

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
20 25 30

Gln Gly Leu Glu Trp Met Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr
35 40 45

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70 75 80

<210> 31
<211> 79
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 31

90
99

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 20 25 30

Gln Gly Leu Glu Trp Met Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr
 35 40 45

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
 50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70 75

<210> 32
<211> 87
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 32

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Val Ser Trp Ile
 20 25 30

Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Val Thr Ile
 35 40 45

Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val
 50 55 60

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly
65 70 75 80

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 85

<210> 33

94
100

<211> 81
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 33

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly
 20 25 30

Lys Gly Leu Glu Trp Ile Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys
 35 40 45

Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala
 50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
65 70 75 80

Ser

<210> 34
<211> 80
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 34

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly
 20 25 30

Lys Gly Leu Glu Trp Ile Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys
 35 40 45

Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala

97
10

50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70 75 80

<210> 35
<211> 79
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 35

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly
20 25 30

Lys Gly Leu Glu Trp Ile Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys
35 40 45

Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala
50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70 75

<210> 36
<211> 87
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 36

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Trp Val
20 25 30

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

g2
62

35 40 45
Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
50 55 60

Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly
65 70 75 80

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
85

<210> 37
<211> 81
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 37

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
20 25 30

Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
35 40 45

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
65 70 75 80

Ser

<210> 38
<211> 80
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

9/4/10

<400> 38

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
20 25 30

Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
35 40 45

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70 75 80

<210> 39

<211> 79

<212> PRT

<213> ARTIFICIAL

<220>

<223> La secuencia está sintetizada

<400> 39

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
20 25 30

Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
35 40 45

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70 75

<210> 40

<211> 87

<212> PRT

GF
104

<213> ARTIFICIAL

<220>

<223> La secuencia está sintetizada

<400> 40

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Trp Val
 20 25 30

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Phe Thr Ile
 35 40 45

Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 50 55 60

Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gln Gly
65 70 75 80

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 85

<210> 41

<211> 81

<212> PRT

<213> ARTIFICIAL

<220>

<223> La secuencia está sintetizada

<400> 41

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 20 25 30

Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
 35 40 45

Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
 50 55 60

9/6
105

Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
65 70 75 80

Ser

<210> 42
<211> 80
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 42

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
20 25 30

Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
35 40 45

Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70 75 80

<210> 43
<211> 87
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 43

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Trp Val
20 25 30

17
106

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Phe Thr Ile
35 40 45

Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
50 55 60

Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly
65 70 75 80

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
85

<210> 44
<211> 81
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 44

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
20 25 30

Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
35 40 45

Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
65 70 75 80

Ser

<210> 45
<211> 80
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

98
107

: :

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 45

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
20 25 30

Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
35 40 45

Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70 75 80

<210> 46
<211> 79
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 46

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
20 25 30

Lys Gly Leu Glu Trp Val Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys
35 40 45

Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70 75

<210> 47

99
108

<211> 80
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 47

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 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
20 25 30

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
35 40 45

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp
50 55 60

Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
65 70 75 80

<210> 48
<211> 80
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 48

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
20 25 30

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
35 40 45

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
50 55 60

Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100
109

65 70 75 80

<210> 49
<211> 80
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 49

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
20 25 30

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
35 40 45

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp
50 55 60

Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
65 70 75 80

<210> 50
<211> 80
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 50

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
20 25 30

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
35 40 45

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp

101
100

50 55 60

Val Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
65 70 75 80

<210> 51
<211> 31
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 51

Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
20 25 30

<210> 52
<211> 32
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 52

Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg
20 25 30

<210> 53
<211> 10
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 53

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

102
11

<210> 54
<211> 10
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa puede ser cualquier ocurrencia de aminoácido naturalmente

<400> 54

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Xaa Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 55
<211> 87
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 55

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Trp Val
 20 25 30

Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Phe Val Phe
 35 40 45

Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu
 50 55 60

Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly
65 70 75 80

Thr Ser Leu Thr Val Ser Ser
 85

103
112

<210> 56
<211> 81
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 56

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
20 25 30

Gln Gly Leu Glu Trp Met Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val
35 40 45

Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr Ser Leu Thr Val Ser
65 70 75 80

Ser

<210> 57
<211> 80
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 57

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
20 25 30

Gln Gly Leu Glu Trp Met Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val
35 40 45

104
113

Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Ala Trp Gly Gln Gly Thr Ser Leu Thr Val Ser Ser
65 70 75 80

<210> 58
<211> 79
<212> PRT
<213> ARTIFICIAL

<220>
<223> La secuencia está sintetizada

<400> 58

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
20 25 30

Gln Gly Leu Glu Trp Met Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val
35 40 45

Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
50 55 60

Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Gln Gly Thr Ser Leu Thr Val Ser Ser
65 70 75

105
114

110500

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document

2. has been signed by M.K. Carter

3. acting in the capacity of Certifying Officer

4. bears the seal/stamp of U.S. Patent and Trademark Office

Certified

5. at Washington, D.C.

6. the fifth of June, 2009

7. by ~~Assistant~~ *Authentication Officer, United States Department of State*

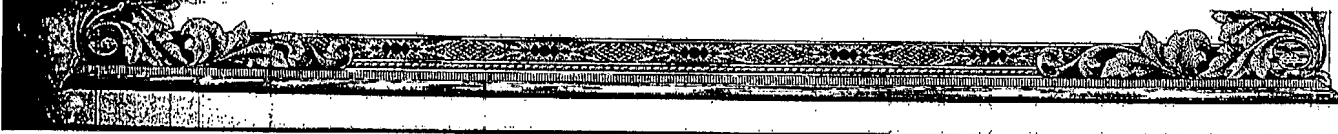
8. No. 09026858-3

9. Seal/Stamp:

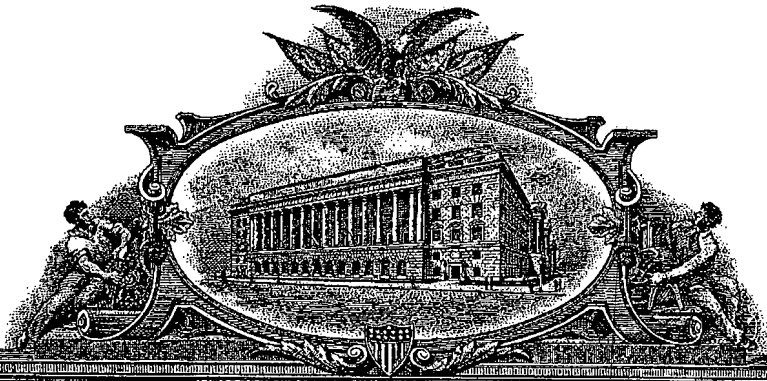
10. Signature:

Denitra T. Hawkins

Denitra T. Hawkins



A 1754655



THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE

United States Patent and Trademark Office

June 02, 2009

**THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED IS A TRUE COPY FROM THE
RECORDS OF THIS OFFICE OF A DOCUMENT RECORDED ON
MAY 18, 2009.**

**By Authority of the
Under Secretary of Commerce for Intellectual Property
and Director of the United States Patent and Trademark Office**



**M. K. CARTER
Certifying Officer**

LD6
115

PATENT ASSIGNMENT											
Version v1.1 st Version v1.1	05/18/2009 500862312										
SION TYPE:	NEW ASSIGNMENT										
E OF CONVEYANCE:	ASSIGNMENT										
GIVING PARTY DATA											
<table border="1"><thead><tr><th>Name</th><th>Execution Date</th></tr></thead><tbody><tr><td>n Wu</td><td>11/08/2006</td></tr><tr><td>ya Singh</td><td>11/07/2006</td></tr><tr><td>Cheung Fung</td><td>11/07/2006</td></tr></tbody></table>		Name	Execution Date	n Wu	11/08/2006	ya Singh	11/07/2006	Cheung Fung	11/07/2006		
Name	Execution Date										
n Wu	11/08/2006										
ya Singh	11/07/2006										
Cheung Fung	11/07/2006										
REIVING PARTY DATA											
<table border="1"><tbody><tr><td>he:</td><td>Tanox, Inc.</td></tr><tr><td>et Address:</td><td>10301 Stella Link</td></tr><tr><td>y:</td><td>Houston</td></tr><tr><td>ate/Country:</td><td>TEXAS</td></tr><tr><td>istal Code:</td><td>77025</td></tr></tbody></table>		he:	Tanox, Inc.	et Address:	10301 Stella Link	y:	Houston	ate/Country:	TEXAS	istal Code:	77025
he:	Tanox, Inc.										
et Address:	10301 Stella Link										
y:	Houston										
ate/Country:	TEXAS										
istal Code:	77025										
PROPERTY NUMBERS Total: 1											
<table border="1"><thead><tr><th>Property Type</th><th>Number</th></tr></thead><tbody><tr><td>Application Number:</td><td>60856505</td></tr></tbody></table>		Property Type	Number	Application Number:	60856505						
Property Type	Number										
Application Number:	60856505										
CORRESPONDENCE DATA											
Fax Number: (212)755-7306 <i>Correspondence will be sent via US Mail when the fax attempt is unsuccessful.</i> Phone: 2123263939 Email: tctsang@jonesday.com Correspondent Name: Thomas Christopher Tsang / JONES DAY Address Line 1: 222 E 41st Street Address Line 4: New York, NEW YORK 10017-6702											
ATTORNEY DOCKET NUMBER:	012279-0204-888										
NAME OF SUBMITTER:	Thomas Christopher Tsang										
Total Attachments: 5 source=204_888_Recordation#page1.tif source=204_888_Recordation#page2.tif											

CH \$40.00 60856505

107
116

RECORDATION FORM COVER SHEET PATENTS ONLY		Attorney Docket Number 12279-204-888
(the Director of the U.S. Patent and Trademark Office: Please record the attached original documents or the new address(es) below		
1. Name of conveying party(ies): Sankhya Sck Chung "Michael" Original name(s) of conveying party(ies) attached? ☐ Yes ☒ No Nature of conveyance: Assignment Merger County Agreement Change of Name Joint Research Agreement Government Interest Assignment Executive Order 9424, Confirmatory License Other Execution Date: <u>November 8, 2006 and November 7, 2006</u>		2. Name and address of receiving party(ies): Name: <u>Tanox, Inc.</u> Address: <u>10301 Stella Link</u> <u>Houston, TX</u> Country (if other than USA): Zip Code: <u>77025</u> Additional name(s) & address(es) attached? ☐ Yes ☐ No
Application number(s) or patent number(s): Patent Application No.(s) <u>60/856,505</u>		This document is being filed together with a new application.
B. Patent No.(s) Additional numbers attached? ☐ Yes ☒ No		
5. Name and address of party to whom correspondence concerning document should be mailed: JONES DAY 222 East 41st Street New York, New York 10017-6702		6. Number of applications and patents involved: <u>1</u> 7. Total fee (37 CFR 3.41):.....\$40.00 Please charge to the deposit account listed in Section 8. 8. Deposit account number: <u>50-3013</u>
DO NOT USE THIS SPACE		
9. Statement and signature. <i>To the best of my knowledge and belief, the foregoing information is true and correct and any attached copy is a true copy of the original document.</i> T. Christopher Tsang 40,258 <u>T. Christopher Tsang</u> March 14, 2009 Name of Person Signing Reg. No. Signature Date		
		Total number of pages including cover sheet: <u>5</u>

Mail documents to be recorded with required cover sheet information to:
Mail Stop Assignment/Recordation Services
Director of the United States Patent and Trademark Office
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450
Or fax documents to Fax No.: 571-273-0140

NY1-4183660v1

REEL 022697 FRAME 0084

ASSIGNMENT

IN CONSIDERATION OF remuneration paid to me by Tanox, Inc., the receipt and sufficiency of which is hereby acknowledged, and for other good and valuable consideration, Herren WU, Sanjaya SINGH, and Sek Chung "Michael" FUNG hereinafter called "Assignor", having made an invention and commissioned Assignee to file a patent application thereon entitled "**Humanized Anti-Factor D Antibodies and uses thereof**", Assignee's Attorney Docket No. TNX1110, does hereby assign, sell, grant, and convey to Tanox, Inc., a corporation organized and existing under the laws of the State of Delaware, having a place of business at 10301 Stella Link, Houston, Texas, 77025, hereinafter called "Assignee," and to its successors and assigns, Assignors' entire right, title and interest throughout the world in and to:

1. Said invention on "**Humanized Anti-Factor D Antibodies and uses thereof**"
2. All U.S. and all other counterpart patent applications relating to said invention, including U.S. Provisional Serial No. 60/854,505, filed on November 4, 2006.
3. All applications for patent or like protection grants on said invention that have now been or may in the future be made, whether in the United States of America or in any other country or jurisdiction;
4. All patents and like protection that may in the future be granted on said invention, whether in the United States of America or in any other country or jurisdiction;
5. All patent applications claiming priority to, substitutions, renewals, reissues, extensions, and the like of said applications and patents and like protection grants, including without limitation, those obtained or permissible under past, present and future law statutes;
6. All rights of action on account of past, present and future unauthorized use of said invention and for infringement of said patents and like protection grants;
7. The right to Assignee to file, as appropriate, in its name or in Assignors' name, applications for patents and like protection grants for said invention in any country or jurisdiction; and
8. All international rights of priority associated with said invention, applications patents and like protection grants;

REEL 022697 FRAME 0085

108
118

9. Assignors covenant that Assignors, their heirs, legal representatives, assigns, administrators, and executors will, at the expense of Assignee, its successors and assigns, execute all papers and perform such other acts as may be reasonably necessary to give Assignee, its successors and assigns, the full benefit of this Assignment, including assisting in filing, prosecuting, enforcing or defending the above-identified patents and patent applications.

EXECUTED as indicated below on the dates opposite our signatures.

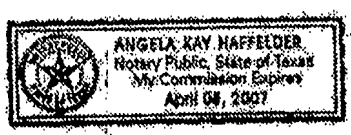
BEFORE ME, the undersigned authority, on this day did personally appear the person named below, known to me to be the person whose name is subscribed to the foregoing instrument, and he acknowledged to me that he executed the same for the purposes and consideration therein expressed.

GIVEN UNDER MY HAND AND SEAL OF OFFICE this the Nov day of Nov, 2006.

Notary Public

Herron WU

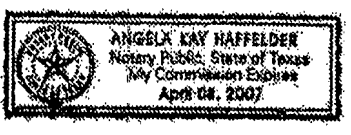
GIVEN UNDER MY HAND AND SEAL OF OFFICE this the 7th day of Nov, 2006.



Angela Kay Haffelder
Notary Public

Sanjaya Singh
Sanjaya SINGH

GIVEN UNDER MY HAND AND SEAL OF OFFICE this the 7th day of November, 2006.



Angela Kay Haffelder
Notary Public

Sek Chung Fung
Sek Chung FUNG

11/07/06 16:06 FAX 7135785005

FAX RM#306

001

ASSIGNMENT

IN CONSIDERATION OF remuneration paid to me by Tanox, Inc., the receipt and sufficiency of which is hereby acknowledged, and for other good and valuable consideration, Herren WU, Sanjaya SINGH, and Sek Chung "Michael" FUNG hereinafter called "Assignor", having made an invention and commissioned Assignee to file a patent application thereon entitled "***Humanized Anti-Factor D Antibodies and uses thereof***", Assignee's Attorney Docket No. TNX1110, does hereby assign, sell, grant, and convey to Tanox, Inc., a corporation organized and existing under the laws of the State of Delaware, having a place of business at 10301 Stella Link, Houston, Texas, 77025, hereinafter called "Assignee," and to its successors and assigns, Assignors' entire right, title and interest throughout the world in and to:

1. Said Invention on "***Humanized Anti-Factor D Antibodies and uses thereof***"
2. All U.S. and all other counterpart patent applications relating to said Invention, including U.S. Provisional Serial No. _____, filed on November 4, 2006.
3. All applications for patent or like protection grants on said Invention that have now been or may in the future be made, whether in the United States of America or in any other country or jurisdiction;
4. All patents and like protection that may in the future be granted on said Invention, whether in the United States of America or in any other country or jurisdiction;
5. All patent applications claiming priority to, substitutions, renewals, reissues, extensions, and the like of said applications and patents and like protection grants, including without limitation, those obtained or permissible under past, present and future law statutes;
6. All rights of action on account of past, present and future unauthorized use of said Invention and for infringement of said patents and like protection grants;
7. The right to Assignee, to file, as appropriate, in its name or in Assignors' name, applications for patents and like protection grants for said Invention in any country or jurisdiction; and
8. All international rights of priority associated with said Invention, applications, patents and like protection grants;

REEL 022697 FRAME 0087

LD9
118

Fax Server

11/8/2008 2:54:13 PM

PAGE

3/003

Fax Server

11/07/08 15:08 FAX 7135785005

FAX RXN306

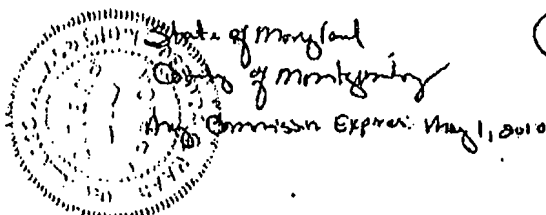
002

9. Assignors covenant that Assignors, their heirs, legal representatives, assigns, administrators, and executors will, at the expense of Assignee, its successors and assigns, execute all papers and perform such other acts as may be reasonably necessary to give Assignee, its successors and assigns, the full benefit of this Assignment, including assisting in filing, prosecuting, enforcing or defending the above-identified patents and patent applications.

EXECUTED as Indicated below on the dates opposite our signatures.

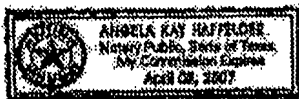
BEFORE ME, the undersigned authority, on this day did personally appear the person named below, known to me to be the person whose name is subscribed to the foregoing instrument, and he acknowledged to me that he executed the same for the purposes and consideration therein expressed.

GIVEN UNDER MY HAND AND SEAL OF OFFICE this the 8th day of Nov, 2008.



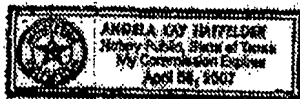
[Signature]
Notary Public Desirée C. Elias
Helen Wu
Helen WU

GIVEN UNDER MY HAND AND SEAL OF OFFICE this the 7th day of Nov, 2008.



[Signature]
Notary Public
Sanjaya Singh
Sanjaya SINGH

GIVEN UNDER MY HAND AND SEAL OF OFFICE this the 7th day of November, 2008.



[Signature]
Notary Public
Sek Chung FUNG
Sek Chung FUNG

RECORDED 05/18/2009

REEL 022697 FRAME 0088

TRADUCCIÓN AL ESPAÑOL DEL DOCUMENTO DE CESIÓN A TANOX, INC.
firmado por los cedentes y el cesionario.

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

1. País: Estados Unidos de América

Este documento público

2. ha sido firmado por M. K. CARTER
3. actuando en capacidad de FUNCIONARIO QUE CERTIFICA
4. lleva el sello/timbre de la OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE EE. UU.

Certificado

5. en Washington D.C.
6. el 05 de junio de 2009
7. por el Funcionario de Autenticación, Departamento de Estado de Estados Unidos
8. No. 09026858-3
9. Sello/timbre

10. Firma

(Firma)
Denitra T. Hawkins

[sello]

LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA
A TODO AQUEL QUE PUEDA LLEGARLE LA PRESENTE:

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE ESTADOS UNIDOS
Oficina de Marcas y Patentes de Estados Unidos

Junio 02 de 2009

LA PRESENTE CERTIFICA QUE EL ANEXO ES UNA COPIA VERDADERA DE
LOS ARCHIVOS DE ESTA OFICINA DE UN DOCUMENTO REGISTRADO EL 18
DE MAYO DE 2009.

Por autoridad del
Subsecretario de Comercio para la Propiedad Intelectual
y Director de la Oficina de Marcas y Patente de Estados Unidos

(firma)
M. K. CARTER
Funcionario que Certifica

Hay un sello que dice:
OFICINA DE MARCAS Y PATENTE DE ESTADOS UNIDOS
DEPARTAMENTO DE COMERCIO

CESIÓN DE PATENTE											
Versión electrónica v1.1	05/18/2009										
Versión de la hoja v1.1	500862312										
TIPO DE PRESENTACIÓN:	CESIÓN NUEVA										
NATURALEZA DEL ACUERDO:	CESIÓN										
DATOS DE LA PARTE CEDENTE:											
<table border="1"><thead><tr><th>Nombre</th><th>Fecha de ejecución</th></tr></thead><tbody><tr><td>Herren Wu</td><td>11/08/2006</td></tr><tr><td>Sanjaya Singh</td><td>11/07/2006</td></tr><tr><td>Sek Cheung Fung</td><td>11/07/2006</td></tr></tbody></table>		Nombre	Fecha de ejecución	Herren Wu	11/08/2006	Sanjaya Singh	11/07/2006	Sek Cheung Fung	11/07/2006		
Nombre	Fecha de ejecución										
Herren Wu	11/08/2006										
Sanjaya Singh	11/07/2006										
Sek Cheung Fung	11/07/2006										
DATOS DE LA PARTE QUE RECIBE											
<table border="1"><tbody><tr><td>Nombre:</td><td>Tanox, Inc.</td></tr><tr><td>Dirección:</td><td>10301 Stella Link</td></tr><tr><td>Ciudad:</td><td>Houston</td></tr><tr><td>Estado/Pais:</td><td>TEXAS</td></tr><tr><td>Código Postal:</td><td>77025</td></tr></tbody></table>		Nombre:	Tanox, Inc.	Dirección:	10301 Stella Link	Ciudad:	Houston	Estado/Pais:	TEXAS	Código Postal:	77025
Nombre:	Tanox, Inc.										
Dirección:	10301 Stella Link										
Ciudad:	Houston										
Estado/Pais:	TEXAS										
Código Postal:	77025										
NUMEROS DE PROPIEDADES Total: 1											
<table border="1"><thead><tr><th>Tipo de Propiedad</th><th>Número</th></tr></thead><tbody><tr><td>Número de solicitud</td><td>60856505</td></tr></tbody></table>		Tipo de Propiedad	Número	Número de solicitud	60856505						
Tipo de Propiedad	Número										
Número de solicitud	60856505										
DATOS DE CORRESPONDENCIA											
NUMERO DE FAX: (212) 755-7306											
La correspondencia se enviará por Correo de Estados Unidos cuando los intentos de hacerlo por fax no sean exitosos.											
Teléfono: 2123263939											
Email: tctsang@jonesday.com											
Nombre de destinatario: Thomas Christopher Tsang / JONES DAY											
Dirección línea 1: 222 E 41st Street											
Dirección Línea 4: New York, NEW YORK 10017-6702											
NUMERO DE EXPEDIENTE DEL ABOGADO:	012279-0204-888										
NOMBRE DEL REMITENTE:	Thomas Christopher Tsang										
Anexos totales: 5											
Fuente=204_888_Recordation#page1.tif											
Fuente=204_888_Recordation#page2.tif											

VH
120

Fuente=204_888_Recordation#page3.tif
Fuente=204_888_Recordation#page4.tif
Fuente=204_888_Recordation#page5.tif

HOJA DE CUBIERTA DEL FORMATO DE REGISTRO UNICAMENTE PARA PATENTES	
Número de Expediente de Abogado 12279-204-888	
Para el Director de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos: Por favor registre los documentos originales adjuntos o la(s) nueva(s) dirección(es) abajo.	
1. Nombre(s) de la(s) parte(s) cedente(s): Herren Wu Sanjaya Singh Sek Chung Fung "Michael" ¿Hay nombres adicionales de la(s) parte(s) cedente(s) adjuntos? ☐ Sí ☒ No	2. Nombre y dirección de la(s) parte(s) que recibe(n): Nombre: Tanox, Inc. Dirección: 10301 Stella Link Houston, TX País (si es diferente de EE.UU.): Código postal: 77025
3. Naturaleza del acuerdo: ☒ Cesión ☐ Acuerdo de seguridad ☐ Fusión ☐ Cambio de nombre ☐ Acuerdo de investigación conjunta ☐ Cesión de Intereses gubernamentales ☐ Orden ejecutiva 9424, Licencia confirmatoria ☐ Otro	¿Hay nombres y direcciones adicionales adjuntos? ☐ Sí ☐ No
Fecha de ejecución: Noviembre 8, 2006 y noviembre 7, 2006	
4. Número(s) de solicitud o número(s) de patente: A. Solicitud de patente No. 60/856,505 Este documento es presentado junto con una nueva solicitud B. Patente No. ¿Hay números adicionales adjuntos? ☐ Sí ☒ No	
5. Nombre y dirección de la parte a quien se debe enviar la correspondencia con relación al documento: JONES DAY 222 East 41st Street New York, New York 10017-6702	6. Número de solicitudes y patentes involucradas: 1 7. Total tasas (37 CFR 3.41):\$ 40.00 Favor consignar a la cuenta de depósito enunciada en la Sección 8. 8. Número de cuenta de depósito: 50-3013
NO UTILICE ESTE ESPACIO	
9. Declaración y firma. <i>Hasta donde conozco y creo, la anterior información es verdadera y correcta y cualquier copia adjunta ese una copia verdadera del documento original.</i> <u>T. Christopher Tsang</u> Nombre de la persona que firma <u>40,258</u> Reg. No. <u>(firma)</u> Firma <u>Marzo 14, 2009</u> Fecha	
Número total de páginas incluyendo la hoja de cubierta: 5	

112
121

CESIÓN

EN CONSIDERACIÓN DE la remuneración pagada a mí por Tanox, Inc., cuyo recibo y suficiencia se reconocen por la presente, y por otra consideración buena y valiosa, **Herrén Wu, Sanjaya Singh y Sek Chung "Michael" Fung**, en adelante "Cedentes", habiendo realizado una invención y comisionado al Cesionario para presentar una solicitud de patente titulada "*Anticuerpos Anti-factor D Humanizados y usos del mismo*", Expediente de Abogado del cesionario No. TNX1110, por la presente cedemos, vendemos, concedemos y transferimos a Tanox, Inc., una compañía organizada y existente según las leyes del Estado de Delaware, con sitio de negocios en 10301 Stella Link, Houston, Texas, 77025, a partir de ahora llamado "Cesionario", y a sus sucesores y asignatarios, todo el derecho de los cedentes, título e interés para todo el mundo en y para:

1. Dicha invención sobre "*Anticuerpos Anti-factor D Humanizados y usos del mismo*".
2. Todas las solicitudes de Estados Unidos y todas las solicitudes de patente homologas relativas a dicha invención, incluyendo la solicitud provisional de Estados Unidos No. 60/856,505, presentada el 4 de noviembre de 2006.
3. Todas las solicitudes para patente o para una protección similar sobre dicha invención que hayan sido o puedan ser hechas en el futuro, ya sea en los Estados Unidos de América o en cualquier otro país o jurisdicción.
4. Todas las patentes y protecciones similares que puedan concederse en el futuro sobre dicha invención, ya sea en los Estados Unidos de América o en cualquier otro país o jurisdicción.
5. Todas las solicitudes de patente que reivindiquen prioridad para sustituciones, renovaciones, re-expediciones, extensiones y similares de dichas solicitudes y patentes y concesiones de protección similar, incluyendo sin limitación aquellas obtenidas o permitidas según los estatutos legales pasados, presentes y futuros.
6. Todos los derechos de acción con respecto al uso no autorizado pasado, presente y futuro de dicha invención y por la infracción de dichas patentes y concesiones de protección similares.
7. El derecho al Cesionario para presentar, como lo considere apropiado, en su nombre o en nombre de los cedentes, solicitudes de patentes y concesiones de protección similar para dicha invención en cualquier país o jurisdicción; y
8. Todos los derechos internacionales de prioridad asociados con dicha invención, solicitudes de patentes y concesiones de protección similares;

9. Los Cedentes convienen que los cedentes, sus herederos, representantes legales, asignatarios, administradores y ejecutores, a costa del Cesionario, sus sucesores y asignatarios, ejecutarán todos los documentos y llevarán a cabo cualquier otro acto que pueda ser razonablemente necesario para dar al Cesionario, sus sucesores y asignatarios, el beneficio total de esta Cesión incluyendo su asistencia para solicitar, gestionar, proteger o defender las patentes y solicitudes de patente arriba identificadas.

EJECUTADO como se indica a continuación en las fechas al frente de nuestras firmas.

ANTE MÍ, la autoridad abajo firmante, en este día compareció personalmente la persona nombrada abajo, a mi saber la persona cuyo nombre está suscrito al anterior documento, y reconoció que ejecutó el mismo para los propósitos y consideraciones allí expresadas.

DADO BAJO MI FIRMA Y SELLO DE OFICINA este ____ de noviembre de 2006.

Notario Público

Herren Wu

DADO BAJO MI FIRMA Y SELLO DE OFICINA este 7 de noviembre de 2006.

(firma)
Notario Público

(firma)
Sanjaya Singh

Hay un sello que dice:
ANGELA KAY HAFIELDER
Notario Público, Estado de Texas
My comisión vence el 08 de abril de 2007

DADO BAJO MI FIRMA Y SELLO DE OFICINA este 7 de noviembre de 2006.

(firma)
Notario Público

(firma)
Sek Chung Fung

Hay un sello que dice:
ANGELA KAY HAFIELDER
Notario Público, Estado de Texas
My comisión vence el 08 de abril de 2007

ROLLO: 022697 CUADRO: 0086

443
122

CESIÓN

EN CONSIDERACIÓN DE la remuneración pagada a mí por Tanox, Inc., cuyo recibo y suficiencia se reconocen por la presente, y por otra consideración buena y valiosa, Herren Wu, Sanjaya Singh y Sek Chung "Michael" Fung, en adelante "Cedentes", habiendo realizado una invención y comisionado al Cesionario para presentar una solicitud de patente titulada "*Anticuerpos Anti-factor D Humanizados y usos del mismo*", Expediente de Abogado del cesionario No. TNX1110, por la presente cedemos, vendemos, concedemos y transferimos a Tanox, Inc., una compañía organizada y existente según las leyes del Estado de Delaware, con sitio de negocios en 10301 Stella Link, Houston, Texas, 77025, a partir de ahora llamado "Cesionario", y a sus sucesores y asignatarios, todo el derecho de los cedentes, título e interés para todo el mundo en y para:

1. Dicha invención sobre "*Anticuerpos Anti-factor D Humanizados y usos del mismo*".
2. Todas las solicitudes de Estados Unidos y todas las solicitudes de patente homologas relativas a dicha invención, incluyendo la solicitud provisional de Estados Unidos No. 60/856,505, presentada el 4 de noviembre de 2006.
3. Todas las solicitudes para patente o para una protección similar sobre dicha invención que hayan sido o puedan ser hechas en el futuro, ya sea en los Estados Unidos de América o en cualquier otro país o jurisdicción.
4. Todas las patentes y protecciones similares que puedan concederse en el futuro sobre dicha invención, ya sea en los Estados Unidos de América o en cualquier otro país o jurisdicción.
5. Todas las solicitudes de patente que reivindiquen prioridad para sustituciones, renovaciones, re-expediciones, extensiones y similares de dichas solicitudes y patentes y concesiones de protección similar, incluyendo sin limitación aquellas obtenidas o permitidas según los estatutos legales pasados, presentes y futuros.
6. Todos los derechos de acción con respecto al uso no autorizado pasado, presente y futuro de dicha invención y por la infracción de dichas patentes y concesiones de protección similares.
7. El derecho al Cesionario para presentar, como lo considere apropiado, en su nombre o en nombre de los cedentes, solicitudes de patentes y concesiones de protección similar para dicha invención en cualquier país o jurisdicción; y
8. Todos los derechos internacionales de prioridad asociados con dicha invención, solicitudes de patentes y concesiones de protección similares;

9. Los Cedentes convienen que los cedentes, sus herederos, representantes legales, asignatarios, administradores y ejecutores, a costa del Cesionario, sus sucesores y asignatarios, ejecutarán todos los documentos y llevarán a cabo cualquier otro acto que pueda ser razonablemente necesario para dar al Cesionario, sus sucesores y asignatarios, el beneficio total de esta Cesión incluyendo su asistencia para solicitar, gestionar, proteger o defender las patentes y solicitudes de patente arriba identificadas.

EJECUTADO como se indica a continuación en las fechas al frente de nuestras firmas.

ANTE MÍ, la autoridad abajo firmante, en este día compareció personalmente la persona nombrada abajo, a mi saber la persona cuyo nombre está suscrito al anterior documento, y reconoció que ejecutó el mismo para los propósitos y consideraciones allí expresadas.

DADO BAJO MI FIRMA Y SELLO DE OFICINA este 8 de noviembre de 2006.

(firma)
Notario Público

(firma)
Herren Wu

Hay un sello que dice:
Estado de Maryland
Condado de Montgomery
My comisión vence el 01 de mayo de 2010

DADO BAJO MI FIRMA Y SELLO DE OFICINA este 7 de noviembre de 2006.

(firma)
Notario Público

(firma)
Sanjaya Singh

Hay un sello que dice:
ANGELA KAY HAFIELDER
Notario Público, Estado de Texas
My comisión vence el 08 de abril de 2007

DADO BAJO MI FIRMA Y SELLO DE OFICINA este 7 de noviembre de 2006.

(firma)
Notario Público

(firma)
Sek Chung Fung

Hay un sello que dice:
ANGELA KAY HAFIELDER
Notario Público, Estado de Texas
My comisión vence el 08 de abril de 2007

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS	
Dependencia:		Fecha: ____/____/____/ AAAA MM DD	Recorrido:
Tipo de Radicación: Entrada: ☐ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐			
Radicador:			Planilla:

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1			
2			
3	09-55632-7		
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

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

Observaciones:

Anexos

CD