

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA



CSA750138

PCT

Organización
Distribución

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

[Handwritten signature]

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

09-81236

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO "ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES
DEL CITOMEGALOVIRUS HUMANO Y
SU USO"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE HUMABS LLC

DOMICILIO SAN FRANCISCO, CALIFORNIA
ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

74. APODERADO HUMBERTO TUBIO CANACHO
COD. 4134

22. BOGOTÁ, D.C., 4 DE AGOSTO / 2009



No. 09-081236- 00000-0000

Fecha: 2009-08-04 15:28:37
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACIONE
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 101

PETITORIO

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención

Patente de Modelo de Utilidad

☒ Capítulo I

Capítulo II

SOLICITANTE (71) Nombre y Dirección: **HUMABS LLC.**
1700 Owens Street, Suite 515,
San Francisco, California 94158, Estados Unidos de
America

Lugar de Constitución: **San Francisco, California, Estados Unidos de America**

REPRESENTANTE Nombre: **HUMBERTO RUBIO CAMACHO** IDENTIFICACIÓN
O APODERADO Dirección: **Carrera 7 No. 74 - 64, Of. 506** C.C. **17'192.062**
(74) Teléfono: **3132408 Fax: 3131647** T.P. **50.007 CSJ**

INVENTOR(ES) (72) Nombre y 1) **Antonio LANZAVECCHIA**
Dirección: **Institute for Research in Biomedicine, Via Vincenzo Vela 6,**
CH-6500 Bellinzona, Suiza
2) **Annalisa MACAGNO**
Institute for Research in Biomedicine, Via Vincenzo Vela 6,
CH-6500 Bellinzona, Suiza

PCT (86)

Solicitud Internacional No. **PCT/IB2008/001111**

Fecha **3 DE ENERO DE 2008**

Publicación Internacional No. **WO 2008/084410**

Fecha **17 DE JULIO DE 2008**

TITULO (54) "ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES DEL CITOMEGALOVIRUS HUMANO Y SU USO"

Clasificación Internacional (51) **C12N 15/13 A61K 39/42 A61P 31/22**

Prioridad	(33) País de origen	(32) Fecha	(31) Número de solicitud
SI ☒ NO	REINO UNIDO	4 DE ENERO DE 2007	0700133.2

Comprobante de pago No. **09-57,551**
09-57,553

Fecha: **4 DE AGOSTO DE 2009**
4 DE AGOSTO DE 2009

**EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN
SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION
DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL**

(21) No. SOLICITUD: (51) INT. CL.:
(22) FECHA DE PRESENTACIÓN: (71) SOLICITANTE: **HUMABS LLC.**
(30) PRIORIDAD: **ESTADOUNIDENSE**
(31) No. DE SOLICITUD: **0700133.2** (72) INVENTORES: **1- Antonio LANZAVECCHIA**
2- Annalisa MACAGNO
(32) FECHA DE PRESENTACIÓN: **4 DE ENERO DE 2007**
(33) PAÍS: **Estados Unidos** (74) APODERADO: **HUMBERTO RUBIO CAMCHO de América**

Solicitud Internacional No. **PCT/IB2008/001111** Fecha **3 DE ENERO DE 2008**
Publicación Internacional No. **WO 2008/084410** Fecha **17 DE JULIO DE 2008**

FECHA ENTRADA EN FASE NACIONAL:

(54) TITULO: "ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES DEL CITOMEGALOVIRUS HUMANO Y SU USO"

RESUMEN:

Un anticuerpo neutralizante que tiene potencia alta para neutralizar el citomegalovirus humanos.

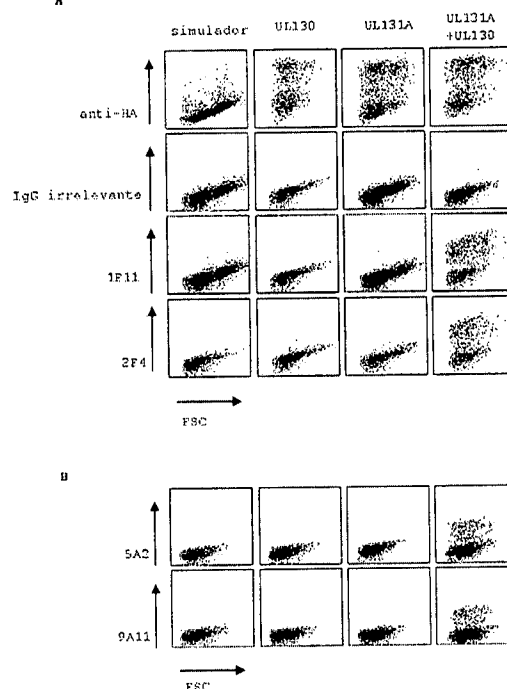
Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo tiene una afinidad de 10^{-8} M o menos.

Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la concentración del anticuerpo requerido para el 50% de neutralización de una cepa clínica de hCMV es 0,1 µg/ml o menos.

ANEXOS

- X** Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- X** Comprobante de pago de la tasa por excedente de Reivindicaciones.
Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
Poderes, si fuere el caso.
Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- X** Declaraciones
- X** Copia de la publicación PCT
Copia informe búsqueda internacional.
- X** Copia de Opinión escrita
- X** Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
Copia del informe del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional (IPEA). (Incluye modificaciones)
Traducción de los anexos del examen preliminar internacional.
Copia de las modificaciones efectuadas de acuerdo con el Artículo PCT en Fase Nacional.
De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- X** Arte final 12 x 12
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- X** Otros - *listado de secuencias*
- X** - *Copia de informes de examen preliminar Int. Cap I (Fom PCT/10/318)*

(11) Figura característica:



(12)

HUMBERTO RUBIO CAMACHO

FIRMA

[Handwritten signature]

C.C. 17'192.062 de Bogotá

T.P. 50.007 Consejo Superior de La Judicatura

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

SOLICITUD DE PATENTE FASE NACIONAL

NIT : 800176089-2

PCT/IB2008/001111

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 57,551

FECHA : AGOSTO 4 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-081236- -00000-0000

Fecha: 2009-08-04 15:28:37 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 101

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
HUMBERTO RUBIO & CIA ABOG	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	104937490	03/08/2009	4,680,000.00

***** CONCEPTO *****

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

SON: QUINIENTOS CUARENTA MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

EXCEDENTE REIVINDICACIONES
PATENTE FASE NACIONAL
PCT/IB2008/001111

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 57,553
FECHA : AGOSTO 4 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-081236- -00000-0000

Fecha: 2009-08-04 15:28:37 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Evt: 378 FASENACIONAL
Act. 411 PRESENTACION Folios: 101

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
HUMBERTO RUBIO & CIA ABOG	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	104937490	03/08/2009	4,680,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
53	50005-01-01	SOLICITUDES	*** REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL
			1,325,000.00
		TOTAL :	\$ 1,325,000.00

SON: UN MILLON TRESCIENTOS VEINTICINCO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
17 July 2008 (17.07.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/084410 A2

(51) International Patent Classification: Not classified

(21) International Application Number:
PCT/IB2008/001111

(22) International Filing Date: 3 January 2008 (03.01.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
0700133.2 4 January 2007 (04.01.2007) GB

(71) Applicant (for all designated States except US): HUM-ABS LLC [US/US]; 1700 Owens St., Suite 515, San Francisco, CA 94158 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): LANZAVECCHIA, Antonio [IT/CH]; Institute for Research in Biomedicine, Via Vincenzo Vela 6, CH-6500 Bellinzona (CH). MACAGNO, Annalisa [CH/CH]; Institute for Research in Biomedicine, Via Vincenzo Vela 6, CH-6500 Bellinzona (CH).

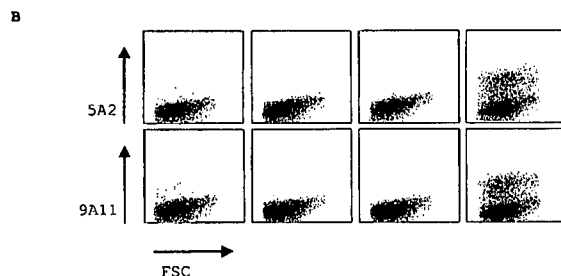
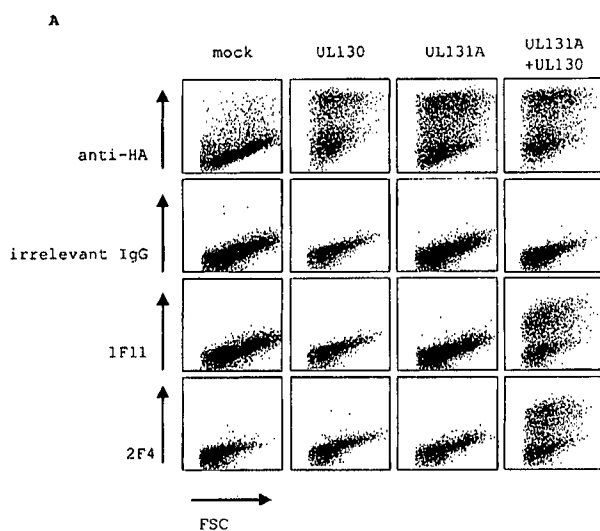
(74) Agents: HALLYBONE, Huw, George et al.; Carpmals & Ransford, 43-45 Bloomsbury Square, London WC1A 2RA (GB).

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

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL,

[Continued on next page]

(54) Title: HUMAN CYTOMEGALOVIRUS NEUTRALISING ANTIBODIES AND USE THEREOF



(57) Abstract: The invention relates to neutralising antibodies which are specific for human cytomegalovirus and bind with high affinity as well as immortalised B cells that produce such antibodies. The antibodies of the invention also have a high potency for the neutralisation of infection. The invention also relates to the epitopes that the antibodies bind to as well as the use of the antibodies and the epitopes in screening methods as well as the diagnosis and therapy of disease.



NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— without international search report and to be republished upon receipt of that report

— with sequence listing part of description published separately in electronic form and available upon request from the International Bureau

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
17 July 2008 (17.07.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/084410 A3

(51) International Patent Classification:

C07K 16/08 (2006.01) A61K 39/42 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01) A61P 31/22 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/IB2008/001111

(22) International Filing Date: 3 January 2008 (03.01.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

0700133.2 4 January 2007 (04.01.2007) GB

(71) Applicant (for all designated States except US): HUM-ABS LLC [US/US]; 1700 Owens St., Suite 515, San Francisco, CA 94158 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): LANZAVECCHIA, Antonio [IT/CH]; Institute for Research in Biomedicine, Via Vincenzo Vela 6, CH-6500 Bellinzona (CH). MACAGNO, Annalisa [CH/CH]; Institute for Research

in Biomedicine, Via Vincenzo Vela 6, CH-6500 Bellinzona (CH).

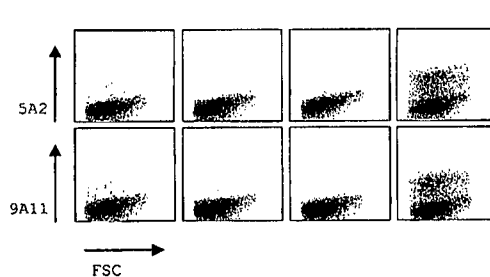
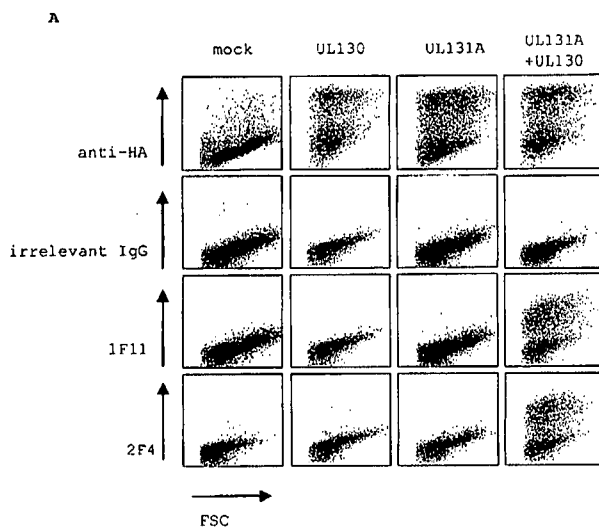
(74) Agents: HALLYBONE, Huw, George et al.; Carpmaels & Ransford, 43-45 Bloomsbury Square, London WC1A 2RA (GB).

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

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),

[Continued on next page]

(54) Title: HUMAN CYTOMEGALOVIRUS NEUTRALISING ANTIBODIES AND USE THEREOF



(57) Abstract: Neutralising antibodies which are specific for human cytomegalovirus and bind with high affinity as well as immortalised B cells that produce such antibodies. The antibodies also have a high potency for the neutralisation of infection. Characterization of the epitopes that the antibodies bind to as well as the use of the antibodies and the epitopes in screening methods as well as the diagnosis and therapy of disease.

WO 2008/084410 A3



European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— *with sequence listing part of description published separately in electronic form and available upon request from the International Bureau*

Published:

- *with international search report*
- *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments*

(88) **Date of publication of the international search report:**
24 December 2008

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2008/001111

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K16/08 C12N15/13 A61K39/42 A61P31/22

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K C12N A61K A61P

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

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	US 5 750 106 A (OSTBERG LARS G [US]) 12 May 1998 (1998-05-12) the whole document	1-21, 25-68 22-24
X A	WANG DAI ET AL: "Human cytomegalovirus virion protein complex required for epithelial and endothelial cell tropism" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC.; US, vol. 102, no. 50, 1 December 2005 (2005-12-01), pages 18153-18158, XP002463457 ISSN: 0027-8424 cited in the application abstract; figure 5 page 18156 - page 18157	1-21, 25-68 22-24

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

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

Date of the actual completion of the international search

22 October 2008

Date of mailing of the international search report

03/11/2008

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Luyten, Kattie

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ADLER B ET AL: "Role of human cytomegalovirus UL131A in cell type-specific virus entry and release" JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY 200609 GB, vol. 87, no. 9, September 2006 (2006-09), pages 2451-2460, XP002500659 ISSN: 0022-1317	1-21, 25-68
A	cited in the application abstract; figure 5 page 2457, right-hand column, paragraph 1 page 2452 - page 2453	22-24
X	TAKEKOSHI M ET AL: "HUMAN MONOCLONAL ANTI-HCMV NEUTRALIZING ANTIBODY FROM PHAGE DISPLAYLIBRARIES" JOURNAL OF VIROLOGICAL METHODS, ELSEVIER BV, NL, vol. 74, 1 January 1998 (1998-01-01), pages 89-98, XP000996439 ISSN: 0166-0934	1-21, 25-68
A	the whole document	22-24
X	US 5 043 281 A (MASUHO YASUHIKO [JP] ET AL) 27 August 1991 (1991-08-27)	1-21, 25-68
A	the whole document	22-24
X	FOUNG S K ET AL: "Human monoclonal antibodies to human cytomegalovirus" JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES, CHICAGO, IL, vol. 159, no. 3, 1 March 1989 (1989-03-01), pages 436-443, XP008096680 ISSN: 0022-1899	1-21, 25-68
A	the whole document	22-24

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2008/001111

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5750106	A	12-05-1998	NONE	
US 5043281	A	27-08-1991	AT 110084 T	15-09-1994
			AU 590656 B2	09-11-1989
			AU 6721887 A	30-06-1987
			DE 3650032 D1	22-09-1994
			DE 3650032 T2	09-03-1995
			EP 0248909 A1	16-12-1987
			WO 8703602 A1	18-06-1987

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY
(Chapter I of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Rule 44bis)

Applicant's or agent's file reference P045812WO	FOR FURTHER ACTION		See item 4 below
International application No. PCT/IB2008/001111	International filing date (day/month/year) 03 January 2008 (03.01.2008)	Priority date (day/month/year) 04 January 2007 (04.01.2007)	
International Patent Classification (8th edition unless older edition indicated) See relevant information in Form PCT/ISA/237			
Applicant HUMABS LLC			

1. This international preliminary report on patentability (Chapter I) is issued by the International Bureau on behalf of the International Searching Authority under Rule 44 bis.1(a).
2. This REPORT consists of a total of 14 sheets, including this cover sheet.

In the attached sheets, any reference to the written opinion of the International Searching Authority should be read as a reference to the international preliminary report on patentability (Chapter I) instead.

3. This report contains indications relating to the following items:

- | | | |
|-------------------------------------|--------------|---|
| ☒ | Box No. I | Basis of the report |
| ☐ | Box No. II | Priority |
| ☒ | Box No. III | Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability |
| ☐ | Box No. IV | Lack of unity of invention |
| ☒ | Box No. V | Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement |
| ☐ | Box No. VI | Certain documents cited |
| ☐ | Box No. VII | Certain defects in the international application |
| ☒ | Box No. VIII | Certain observations on the international application |

4. The International Bureau will communicate this report to designated Offices in accordance with Rules 44bis.3(c) and 93bis.1 but not, except where the applicant makes an express request under Article 23(2), before the expiration of 30 months from the priority date (Rule 44bis .2).

	Date of issuance of this report 07 July 2009 (07.07.2009)
The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Cecile Chatel
Facsimile No. +41 22 338 82 70	e-mail: ro.ib@wipo.int

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

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

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

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

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/IB2008/001111

International filing date (day/month/year)
03.01.2008

Priority date (day/month/year)
04.01.2007

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07K16/08 C12N15/13 A61K39/42 A61P31/22

Applicant
HUMABS LLC

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

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

2. FURTHER ACTION

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

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

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

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

Name and mailing address of the ISA:



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

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Luyten, Kattie

Telephone No. +31 70 340-8924



WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/IB2008/001111

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
- ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).

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

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:

a. type of material:

- ☒ a sequence listing
- ☐ table(s) related to the sequence listing

b. format of material:

- ☒ on paper
- ☒ in electronic form

c. time of filing/furnishing:

- ☒ contained in the international application as filed.
- ☒ filed together with the international application in electronic form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.

4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

5. Additional comments:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/IB2008/001111

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

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

- ☐ the entire international application
- ☒ claims Nos. 33-34 and 66-67 (partially)

because:

- ☐ the said international application, or the said claims Nos. relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):
- ☒ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. 33-34 and 66-67 (partially) are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):
- see separate sheet
- ☒ the claims, or said claims Nos. 33-34 and 66-67 (partially) are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):
- see separate sheet
- ☐ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos.
- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:
- ☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
- ☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
- ☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13ter.1(a) or (b).
- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
- ☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.
- ☐ See Supplemental Box for further details

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/IB2008/001111

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

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>6-20, 22-24, 29, 31, 41-46, 48, 51-60, 63, 65</u>
	No: Claims	<u>1-5, 21, 25-28, 30, 32-40, 47, 49-50, 61-62, 64, 66-68</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>22-24</u>
	No: Claims	<u>1-21, 25-68</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-68</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

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

see separate sheet

SECTION III

Claims 33-34 and 66-67 relate to the epitope bound by the antibodies as in claims 1-25. Said antibodies are defined by functional features or a combination of functional and structural features. Though, said claims do not define any structural features of the epitope to which the antibodies bind. Claim 5 defines the protein complex to which the antibody binds, though not the epitope bound by the antibody. Hence, the structural features of the epitope as in claims 33-34 and 66-67 are not defined. Therefore, the scope of said claims is unclear. Claims 33-34 and 66-67 lack clarity, support and disclosure in the sense of Articles 6 and 5 PCT. This non-compliance with the substantive provisions is to such an extent, that the search was performed taking into consideration the non-compliance in determining the extent of the search of the claim (PCT Guidelines 9.19 and 9.20).

The description defines the epitope as "a conformational epitope made by UL130 and UL131A gene products" (Example 2) or "an epitope of gB" (Example 3). Though, the specific part of said proteins bound by the antibodies has not been defined. The search and the present opinion of claims 33-34 and 66-67 are consequently restricted to epitopes of the human cytomegalovirus proteins UL130, UL131A and gB in general.

SECTION V

1 PRIOR ART

1.1 Reference is made to the following documents:

- D1: US-A-5 750 106 (OSTBERG LARS G [US]) 12 May 1998 (1998-05-12)
- D2: WANG DAI ET AL: "Human cytomegalovirus virion protein complex required for epithelial and endothelial cell tropism" Proceedings of The National Academy of Sciences of USA, National Academy of Science, Washington, DC.; US, vol. 102, no. 50, 1 December 2005 (2005-12-01), pages 18153-18158, XP002463457 ISSN: 0027-8424 (cited in the application)
- D3: ADLER B ET AL: "Role of human cytomegalovirus UL131A in cell type-specific virus entry and release" Journal of General Virology 200609 GB, vol. 87, no. 9,

September 2006 (2006-09), pages 2451-2460, XP002500659 ISSN: 0022-1317
(cited in the application)

- D4: TAKEKOSHI M ET AL: "Human monoclonal anti-hCMV neutralizing antibody from phage display libraries" Journal of Virological Methods, Elsevier BV, NL, vol. 74, 1 January 1998 (1998-01-01), pages 89-98, XP000996439 ISSN: 0166-0934
- D5: US-A-5 043 281 (MASUHO YASUHIKO [JP] ET AL) 27 August 1991 (1991-08-27)
- D6: FOUNG S K ET AL: "Human monoclonal antibodies to human cytomegalovirus" Journal of Infectious Diseases, Chicago, IL, vol. 159, no. 3, 1 March 1989 (1989-03-01), pages 436-443, XP008096680 ISSN: 0022-1899

- 1.2 Document D1 discloses the production (hybridoma) and identification (e.g. sequence) of neutralizing human anti-human cytomegalovirus (CMV) monoclonal antibody SDZ MSL 109. Said antibody blocks CMV infection of the fibroblast cell line MRC-5. It shows 50% neutralization of laboratory strains Davis and AD169 and 8 clinical CMV isolates at 100 ng/ml (whole document, especially Example II).
- 1.3 Document D2 discloses neutralizing anti-human CMV monoclonal antibodies 3E3 and 3C5 that bind the UL130 protein. Said antibodies inhibit the infection of endothelial cells and epithelial/retinal cells but not of fibroblasts. 50% neutralization is achieved at 10-20 µg/ml (Abstract; Figure 5; pages 18156-18157).
- 1.4 Document D3 discloses neutralizing anti-human CMV antiserum raised against a specific peptide of the UL131A protein. Said antibody inhibits infection of endothelial cells but not of fibroblasts (Abstract; Figure 5; pages 2452-2453; page 2457, right-hand column, paragraph 1).
- 1.5 Document D4 discloses a neutralizing human anti-human CMV Fab. Said Fab shows 50% reduction of HCMV plaque formation (HEL cells) at 1 µg/ml (whole document, especially Figure 5). D4, moreover, describes the neutralizing epitopes of human CMV gB and gH (page 90).

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IB2008/001111

- 1.6 Document D5 discloses neutralizing human anti-human CMV monoclonal antibodies C41 (ATCC HB9215) and C23. Said antibodies show 50% inhibition of CMV infection of HEL cells at 0.18 µg/ml (whole document, especially Examples 2 and 4).
- 1.7 Document D6 discloses neutralizing human anti-human CMV monoclonal antibodies. Said antibodies inhibit CMV infection of fibroblasts (whole document).
- 2 The patentability of claims 39-49 and 66 can be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as patentable claims to the use of a compound in medical treatment (claim 49), but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment.
- 3 NOVELTY (Art. 33(2) PCT)
 - 3.1 The term "high" is a relative term. Without any reference, said term is meaningless, and does not allow to distinguish the claimed neutralizing antibody from the neutralizing antibodies disclosed in documents D1 to D6. Hence, claim 1 is not novel over D1 to D6.
 - 3.2 Prior art documents D1 to D6 do not define the affinity of the antibodies. However, an affinity of 10^{-8} M falls within the normal range of affinities of an antibody, and is not considered as a novel feature. Hence, claim 2 is not novel over D1 to D6. Although, antibody MSL109 appears to have one of the lowest IC50 values of the prior art, this does not mean that it also has the lowest affinity for human CMV. Therefore, it cannot be excluded that none of the prior art antibodies show the affinity as defined in claim 4. Hence, claim 4 is not novel over D1 to D6.
 - 3.3 Antibody MSL109 of D1 achieves 50% neutralization of a clinical isolate of human CMV at 0.1 µg/ml, as claimed in present claim 3. The neutralization activity of MSL109 was tested on fibroblast cells, though this does not exclude that said antibodies also inhibit infection of the cell types as in claims 62 and 64. Hence, claims 3, 62 and 64 are not novel over D1.

- 3.4 The antibodies of D2 and D3 bind to UL130 and UL131A, respectively. Said antibodies are considered to bind the UL130/UL131A complex. Hence, claim 5 is not novel over D2 and D3.
- 3.5 The neutralizing anti-human CMV antibodies of D1 and D4-D6 are human monoclonal antibodies. Hence, claim 21 is not novel over D1 and D4-D6.
- 3.6 Since in claim 25 the epitope is not clearly defined, it is not possible to distinguish the antibody as defined in claim 25 from any antibody that neutralizes human CMV. Hence, claim 25 is not novel over D1-D6.
- 3.7 Document D4 discloses a Fab fragment with the features of claim 1. Hence, claims 26-27 are not novel over D4.
- 3.8 The nucleotide sequences of the nucleic acid molecules encoding the neutralizing anti-human CMV Fab of D4 have been deposited at the DNA Data Bank of Japan (section 2.5.). Moreover, said sequence were cloned into sequencing vectors CV-1 and CV-2. Hence, claims 28 and 30 are not novel over D4.
- 3.9 D1 discloses the "immortalised B cell clone" (hybridoma) expressing anti-CMV antibody MSL109 and the method of isolating antibodies from said cells (column 2, lines 28-44). Hence, claims 32 and 35 are not novel over D1. Similarly, claims 32 and 35 are not novel over Example 2 of D5.
- 3.10 Claim 33 refers back to claim 1, which relates to human CMV neutralizing antibodies in general. Document D3 discloses the sequence of two UL131A peptides used as immunogen to raise neutralizing anti-human CMV antibodies. Hence, said peptides are considered as epitopes/immunogenic polypeptides falling within the definitions of claims 33-34 and 66. Document D4 discloses the amino acid positions of the neutralizing epitopes of the human CMV proteins gB and gH. It is noted that the full-length gB and gH proteins fall within the definition of claim 34. The expression "for screening ..." is interpreted as "suitable for screening ...", and does not limit the

subject-matter of a product claim. Therefore, claim 67 includes the same subject-matter as claim 33. Thus, claims 33-34 and 67 are not novel over D3 and D4. Claim 66 is not novel over D3.

- 3.11 The "pharmaceutical composition" as in claim 36 and the "kit for diagnosis" as in claim 50, are not novel over any of the antibody dilutions as in D1 to D6. D3 relates to a polyclonal antibody, which binds two epitopes of UL131A. Hence, claims 36, 38 and 50 are not novel over D1 to D6 and claims 37 and 47 are not novel over D3.
- 3.12 Documents D1 and D5 relate to the development of antibodies for treatment (D1, column 2; claim 14) and diagnosis (D5, column 1, lines 10-16) of human CMV infections. Hence, claims 39-40, 49 and 61 are not novel over D1 and D5.
- 3.13 Document D1 discloses that anti-human CMV antibody MSL109 neutralizes human CMV infection of fibroblasts. Though, said document is silent about the neutralizing effect of MSL109 on endothelial, epithelial or dendritic cell infection. Hence, the concentration as defined in claim 68 is unknown. Therefore, said claim 68 is not novel over documents D2 and D3 which disclose antibodies that neutralize human CMV infection of endothelial cells.
- 3.14 The prior art does not disclose neutralizing anti-human CMV antibodies with the sequences as defined in claims 6-20, or the antibodies 1F11, 2F4 and 5A2 of the present application (claims 22-24). Similarly, claim 29 is novel over the cited prior art.
- 3.15 Moreover, documents D1-D6 do not disclose a cell as in claim 31; the medical uses as in claims 41-46; the combination of an anti-UL130/131A antibody with an anti-gH antibody (claim 48); the methods of claims 51-59; the use as in claim 60; or an antibody with the combined features as in claims 62 and 65. Hence, claims 31, 41-46, 48, 51-60 and 65 are novel over the cited prior art.
- 3.16 The antibodies as in D1-D2 and D4-D5 show 50% neutralization at concentrations in the range of 20 µg/ml to 0.1 µg/ml. Therefore, claim 63 is novel over said documents.

3.17 Thus, although claims 6-20, 22-24, 29, 31, 41-46, 48, 51-60, 63 and 65 are novel over the cited prior art. The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 1-5, 21, 25-28, 30, 32-40, 47, 49-50, 61-62, 64 and 66-68 is not new in the sense of Article 33(2) PCT.

4 INVENTIVE STEP (Art. 33(3) PCT)

- 4.1 Antibodies 1F11, 2F4 and 5A2 of the present application bind to the human CMV UL130/131A protein complex and neutralize human CMV infection of endothelial cells but not of fibroblasts. They achieve a 50% neutralization at 1-3 ng/ml. Therefore, document D2, disclosing neutralizing anti-human CMV antibodies that bind the UL130 protein and that inhibit infection of endothelial cells but not of fibroblasts is regarded as being the closest prior art to the subject-matter of claims 6-20 and 22-24. The antibodies of claims 6-20 and 22-24 differ from D2 with respect to their sequences. The effect of the difference is that present antibodies 1F11, 2F4 and 5A2 show 50% neutralization of human CMV infection of endothelial cell at a much lower concentration, 1-3 ng/ml, than the antibody of D3, 10 µg/ml. The problem to be solved by the present application may therefore be regarded as to provide improved neutralizing anti-human CMV antibodies that inhibit human CMV infection of endothelial cells.
- 4.2 The solutions as in claims 22-24 solve the problem posed. Present antibodies 1F11, 2F4 and 5A2 show 50% neutralization of human CMV infection of endothelial cells at a surprisingly low concentration compared to the antibodies of the prior art. Hence, claims 22-24 involve an inventive step.
- 4.3 The antibodies of claims 6-20 are defined by the combination of a functional feature "neutralizing human CMV", which is not novel, and partial structural features, i.e. the sequence of one or more of the CDRs, or the sequence of the heavy or light chain. Though, only antibodies which have heavy and light chain variable regions with the sequences of SEQ ID NOs: 7 and 8 (1F11), 17 and 18 (2F4) or 39 and 40 (5A2) can be considered to have the characteristics and properties of antibodies 1F11, 2F4 and 5A2 as exemplified. Hence, the antibodies of claims 6-20 lack essential features, the

full VH and VL sequence, which are necessary to arrive at the desired effect of 50% neutralization of human CMV infection of endothelial cells at 1-3 ng-ml. Thus, claims 6-20 do not solve the problem posed, and lack an inventive step.

- 4.4 In claims 63 and 65 the antibodies are defined by the desired effect. Though, said claims do not define the technical features to achieve this effect. Hence, claims 63 and 65 do not solve the problem posed and lack an inventive step.
- 4.5 The solutions provided by claims 29, 31 and 51-60 relate to products or methods which fall within the routine skills of those skilled in the art and merely solve a standard problem. Hence, said claims do not involve an inventive step.
- 4.6 Claims 41-46 and 48 relate to the medical use of an antibody that neutralizes human CMV for the treatment of hCMV infection. Said use is not novel over documents D1 and D5. The additional embodiments of claims 41-46 and 48 fall within the knowledge and ability of the skilled person. Hence, said claims do not involve an inventive step.
- 4.7 Thus, the present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 6-20, 29, 31, 41-46, 48, 51-60, 63 and 65 does not involve an inventive step in the sense of Article 33(3) PCT.

SECTION VIII

1 CLARITY AND SUPPORT (Art. 6 PCT)

- 1.1 The antigen specificity of the antibody of claim 1 is not defined. This leaves the possibility that the antibody does not directly bind human CMV but may bind e.g. a cell surface receptor used by CMV. This renders it difficult to compare the claimed antibodies with prior art antibodies. Therefore, claim 1 lacks clarity. In claim 1, moreover, the relative term "high" is unclear, since "high potency" is not linked with a well-established value.

- 1.2 In claim 3 the cell type used in the neutralization assay is not defined. Though, as shown in the Examples, the present antibodies do not show the same neutralization activity towards different cell types. Hence, the cell type is an essential feature. Since, that feature is missing, claim 3 is unclear. Moreover, not every "clinical isolate of hCMV" (claims 3, 62 and 68) shows the same activity. Hence, a general "clinical isolate of hCMV" cannot be used as a standard to define a functional feature. Hence, said expression is unclear.
- 1.3 The internal designations "1F11", "2F4" and "5A2" employed in claims 22-24 have no precise meaning, therefore they render the definition of the subject-matter of claims 22-24 unclear. The antibodies should instead be defined by their antigen-specificity and their full VH and VL sequences.
- 1.4 The epitope of the antibodies of claims 7 and 11 are unknown. Therefore, the expression "epitope capable of binding" as in claim 25, renders claim 25 unclear. Similarly, the epitopes of the antibodies of claims 1-25 are unknown. Therefore, the epitope of claims 33 and 66-67 is not defined. Hence, claims 25, 33-34 and 66-67 lack clarity.
- 1.5 A fragment of an antibody does not necessary retain the functional features of said antibody. Without any structural or functional definition, the fragment as in claim 26 is unclear.
- 1.6 The reference in claim 35 to claim 10 is inconsistent with its context. Hence, claim 35 is unclear.
- 1.7 Claims 47 and 48 refer to both a product claim and a use claim. This renders the category of said claims unclear.
- 1.8 In claim 58 the "expression host" is defined by means of the method to produce it. Though, method steps do not allow to define the technical features of a product. Hence, a product is not limited by the process by which it has been made. Therefore, the "expression host" as in claim 58 is not defined and renders claim 58 unclear.

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IB2008/001111

- 1.9 The application does not meet the requirements of Article 6 PCT, because claims 1, 3, 22-26, 33-35, 47-48, 58, 62 and 66-68 are not clear.

ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES DEL CITOMEGALOVIRUS HUMANO Y SU USO

Todos los documentos mencionados en la presente se
5 incorporan como referencia en su totalidad.

CAMPO TÉCNICO

Esta invención se refiere a anticuerpos que tienen
especificidad para el citomegalovirus humano, en forma
adecuada los anticuerpos monoclonales que tienen especificidad
10 y las células B inmortalizadas que producen dichos anticuerpos
monoclonales. La invención también se refiere a los epitopes a
los que se unen los anticuerpos así como al uso de los
anticuerpos y los epitopes en los métodos de detección así
como el diagnóstico, profilaxis y terapia de la enfermedad.

15

ANTECEDENTES DEL ARTE

El citomegalovirus humano (hCMV) es un patógeno
ampliamente distribuido que puede causar patología grave en
los adultos inmunosuprimidos y en la infección del feto y ha
20 sido implicado en enfermedades crónicas tales como
aterosclerosis. El hCMV infecta múltiples tipos celulares que
incluyen fibroblastos, células endoteliales, epiteliales y
hematopoyéticas [1]. Las cepas atenuadas de de hCMV propagadas
in vitro, que se desarrollan como vacunas candidatas, han
25 perdido el tropismo para las células endoteliales, a la vez
que retienen la capacidad de infectar fibroblastos [2].
Recientemente se ha demostrado que dos complejos de
glicoproteínas virales controlan el tropismo celular de hCMV.
Un complejo de gH, gL y gO se requiere para la infección de
30 los fibroblasto, mientras que un complejo de gH, gL y las
proteínas codificadas por los genes UL131-UL128 son
responsables de la infección de las células endoteliales,
células epiteliales y células dendríticas [2-8].

35 Las globulinas hiperinmunes ya se comercializan para la
profilaxis de la enfermedad por hCMV asociada con trasplante y
evidencia reciente indica que estas tienen efecto terapéutico

en mujeres embarazadas [9]. Este método terapéutico está limitado por la baja cantidad de anticuerpo neutralizante que se puede transferir y por esta razón, sería muy deseable la disponibilidad de anticuerpos humanos (tales como anticuerpos monoclonales humanos) con alta capacidad neutralizante. Sin embargo el objetivo de anticuerpos neutralizantes de hCMV aun no se ha establecido. Trabajos previos identificaron a gB y gH como blancos potenciales. Sin embargo, un anticuerpo humanizado para gH (MSL 109) no mostró ningún efecto significativo en un ensayo clínico [10, 11]. Todos los anticuerpos neutralizantes descritos hasta ahora tenían baja capacidad neutralizante ya que ellos neutralizan la infección con hCMV solo en concentraciones altas. Por ejemplo, el anticuerpo MSL-109 solo exhibió un actividad neutralizante de 50% a una concentración de 10 µg/ml, un hecho que puede explicar la carencia de un efecto *in vivo*. [11]. La potencia neutralizante de los anticuerpos anti-hCMV se mide normalmente usando fibroblastos como células blanco. Sin embargo, se sabe que hCMV causa patología al infectar otros tipos celulares tales como células endoteliales, células epiteliales y leucocitos. No parece haber anticuerpos monoclonales disponibles que sean capaces de neutralizar con alta potencia la infección de células blanco no fibroblastos. Los anticuerpos neutralizantes recientemente descritos para UL128 y UL130 también demostraron muy baja potencia para neutralizar la infección de las células endoteliales [7].

En consecuencia se necesita la producción de anticuerpos neutralizantes contra hCMV así como la dilucidación del blanco a que se unen dichos anticuerpos.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La invención se basa en la producción de anticuerpos y fragmentos de anticuerpo que neutralizan la infección con hCMV y que tienen una potencia particularmente alta para neutralizar la infección con hCMV. Dichos anticuerpos son de desear, ya que solo se requieren concentraciones bajas para

neutralizar una cantidad dada de virus. Esto facilita mayores niveles de protección a la vez que se administran menores cantidades de anticuerpo. Los anticuerpos monoclonales humanos y los clones de células B inmortalizadas que secretan dichos anticuerpos también están incluidos dentro del alcance de la invención.

Los inventores han descubierto que los anticuerpos dirigidos a una combinación de UL130 y UL131A son particularmente efectivos para neutralizar el hCMV. La combinación puede ser un complejo de UL130 y UL131A que forma un epítopo reconocido por el anticuerpo o un anticuerpo se puede dirigir a uno de UL130 y UL131A, la presencia de la otra proteína es necesaria para la especificidad.

La invención también se refiere a la caracterización del epítopo a que se unen los anticuerpos y el uso de este epítopo para originar una respuesta inmune.

La invención también se refiere a varios métodos y usos que involucran los anticuerpos de la invención y los epítopos a los que se unen.

Anticuerpos de la invención

La invención proporciona anticuerpos monoclonales o recombinantes que tienen potencia particularmente alta para neutralizar el hCMV. La invención también proporciona fragmentos de estos anticuerpos recombinantes o monoclonales, en particular fragmentos que retienen la actividad de unión al antígeno de los anticuerpos, por ejemplo que retienen al menos una región determinante de complementariedad (CDR) específica para las proteínas UL130 y UL131A del hCMV.

En esta memoria descriptiva, por "potencia alta para neutralizar el hCMV" se entiende que una molécula de anticuerpo de la invención neutraliza hCMV en un ensayo estándar a una concentración mucho menor que los anticuerpos

conocidos en al técnica, por ejemplo en comparación con MSL-109.

Con preferencia, el molécula de anticuerpo de la presente invención puede neutralizar a una concentración de 0,16 µg/ml o menor (es decir, 0,15, 0,125, 0,1, 0,075, 0,05, 0,025, 0,02, 0,016, 0,015, 0,0125, 0,01, 0,0075, 0,005, 0,004 o menor), con preferencia 0,016 µg/ml o menor (una concentración de anticuerpo de 10^{-8} o menor, con preferencia 10^{-9} M o menor, con preferencia 10^{-10} M o menor, es decir, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-13} M o menor). Esto significa que solo se requieren concentraciones muy bajas de anticuerpo para el 50% de neutralización de una cepa clínica de hCMV *in vitro* en comparación con la concentración de MSL-109 necesaria para la neutralización del mismo título de hCMV. Con preferencia, la concentración del anticuerpo de la invención requerida para el 50% de neutralización de la infección de las células endoteliales, células epiteliales y células dendríticas por una cepa clínica de hCMV es 50 veces o más (es decir, 75, 100, 150, 200 o más) menor que la requerida por MSL-109. La potencia se puede medir usando un ensayo de neutralización estándar como se describió en el arte.

Los anticuerpos de la invención son capaces de neutralizar el hCMV. Con preferencia, un anticuerpo de acuerdo con la invención impide la infección de fibroblastos o células endoteliales. Con más preferencia, un anticuerpo de acuerdo con la invención impide la infección de las células endoteliales. Con preferencia, un anticuerpo de acuerdo con la invención impide la infección de fibroblastos y células endoteliales. Los anticuerpos de la invención con preferencia también previenen la infección de las células dendríticas y células epiteliales tale como, las células retinianas.

Estos anticuerpos se pueden usar como agentes profilácticos o terapéuticos después de la formulación apropiada, o como herramienta diagnóstica.

Un "anticuerpo neutralizante" es uno que puede neutralizar la capacidad de este patógena para iniciar y/o perpetuar una infección en un huésped. La invención
5 proporciona un anticuerpo monoclonal humano neutralizante, en donde el anticuerpo reconoce un antígeno del citomegalovirus humano (hCMV).

Con preferencia, un anticuerpo de acuerdo con la
10 invención tiene especificidad para una combinación de UL130 y UL131A.

Con preferencia un anticuerpo de acuerdo con la invención es un anticuerpo monoclonal denominado en la presente como
15 1F11 o 2F4. Estos anticuerpos se aislaron inicialmente de un dador infectado con hCMV, y son producidos por los clones de células B inmortalizadas denominadas como 1F11 o 2F4. Se ha demostrado que estos anticuerpos neutralizan la infección con hCMV de las células endoteliales, células epiteliales, células
20 retinianas y células dendríticas. Además, los anticuerpos 5A2 y 9A11, aislados de un dador infectado con hCMV diferente, muestran la misma especificidad para una combinación de UL130 y UL131A y la capacidad para neutralizar la infección con hCMV de las células endoteliales, epiteliales, retinianas y
25 dendríticas. Estos anticuerpos son producidos por los clones de células B inmortalizadas denominadas como 5A2 y 9A11, respectivamente.

1F11 consiste en una cadena pesada que tiene la secuencia
30 de aminoácidos enumerado en la SEQ ID NO: 7 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos enumerado en la SEQ ID NO: 8. 2F4 consiste en una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos enumerado en la SEQ ID NO: 17 y una
cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos enumerado
35 en la SEQ ID NO: 18. Las CDR de las cadenas pesadas del anticuerpo se denominan como CDRH1, CDRH2 y CDRH3, respectivamente. De modo similar, las CDR de las cadenas

livianas del anticuerpo se denominan como CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente. La posición de los aminoácidos de la CDR se definen de acuerdo con el sistema de numeración de IMGT [12, 13, 14] como: posiciones de CDR1 - IMGT 27 a 38, 5 posiciones CDR2 - IMGT 56 a 65 y posiciones de CDR3 - IMGT 105 a 117.

5A2 consiste en una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos enumerado en la SEQ ID NO: 39 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos enumerado en la SEQ ID NO: 40.

La secuencia de aminoácidos de las CDR de estos anticuerpos se muestran en la Tabla 1.

15 **Tabla 1**

	1F11	2F4	5A2
CDRH1	GFTFSSYA (SEQ ID NO:1)	GFSFNTYG (SEQ ID NO:11)	GGTFSSYV (SEQ ID NO:33)
CDRH2	ISFDGDNK (SEQ ID NO:2)	IWDDGSKM (SEQ ID NO:12)	IIPIFNTA (SEQ ID NO:34)
CDRH3	AREELVGLMPPYYNYG LDV (SEQ ID NO:3)	ARDEGAIMLHAMTDYG LDV (SEQ ID NO:13)	ARDFLSGPMEMPGGYY GLDV (SEQ ID NO:35)
CDRL1	SSNIGNNF (SEQ ID NO:4)	NLGDEF (SEQ ID NO:14)	QSVLYSSNNKNY (SEQ ID NO:36)
CDRL2	DND (SEQ ID NO:5)	QDS (SEQ ID NO:15)	WAS (SEQ ID NO:37)
CDRL3	ETWDGSLNPAVV (SEQ ID NO:6)	QAWDSSTAHYV (SEQ ID NO:16)	QQYYSTPIT (SEQ ID NO:38)

La invención también incluye un anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende uno o más (es decir, uno, dos o tres) CDR de cadena pesada de 1F11 o 2F4 (SEQ ID NOS: 1-3 o 11-13). También se incluye un anticuerpo que comprende una 20 cadena pesada que comprende uno o más (es decir, uno, dos o tres) CDR de cadena pesada de 5A2 (SEQ ID NOS:33-35).

Con preferencia un anticuerpo de acuerdo con la invención comprende una cadena pesada que comprende (i) SEQ ID NO: 1 para CDRH1, SEQ ID NO: 2 para CDRH2 y SEQ ID NO: 3 para CDRH3, o (ii) SEQ ID NO: 11 para CDRH1, SEQ ID NO: 12 para CDRH2 y
 5 SEQ ID NO: 13 para CDRH3. Un anticuerpo preferido adicional de acuerdo con la invención comprende una cadena pesada que comprende SEQ ID NO: 33 para CDRH1, SEQ ID NO: 34 para CDRH2 y SEQ ID NO: 35 para CDRH3.

10 La invención también incluye un anticuerpo que comprende una cadena liviana que comprende uno o más (*es decir*, uno, dos o tres) CDR de cadena liviana de 1F11 o 2F4 (SEQ ID NOs: 4-6 o 14-16). También se incluye un anticuerpo que comprende una cadena liviana que comprende uno o más (*es decir*, uno, dos o
 15 tres) CDR de cadena liviana de 5A2 (SEQ ID NOs: 36-38).

Con preferencia un anticuerpo de acuerdo con la invención comprende una cadena liviana que comprende (i) SEQ ID NO: 4 para CDRL1, SEQ ID NO: 5 para CDRL2 y SEQ ID NO: 6 para CDRL3, o (ii) SEQ ID NO: 14 para CDRL1, SEQ ID NO: 15 para CDRL2 y
 20 SEQ ID NO: 16 para CDRL3. Un anticuerpo preferido adicional de acuerdo con la invención comprende una cadena liviana que comprende SEQ ID NO: 36 para CDRL1, SEQ ID NO: 37 para CDRL2 y SEQ ID NO: 38 para CDRL3.

25

Con preferencia un anticuerpo de acuerdo con la invención comprende una cadena pesada que tiene la secuencia enumerada en la SEQ ID NO: 7, 17 o 39. Con preferencia un anticuerpo de acuerdo con la invención comprende una cadena liviana que
 30 tiene la secuencia enumerada en la SEQ ID NO: 8, 18 o 40.

También pueden existir moléculas de anticuerpo híbrido que comprenden una o más CDR de 1F11 y una o más CDR de 2F4. Con preferencia, dichos anticuerpos híbridos comprenden tres
 35 CDR de 1F11 y tres CDR de 2F4. En consecuencia, los anticuerpos híbridos preferidos comprenden i) las tres CDR de cadena liviana de 1F11 y las tres CDR de cadena pesada de 2F4,

o ii) las tres CDR de cadena pesada de 1F11 y las tres CDR de cadena liviana de CDR de 2F4. En una forma alternativa, dichos híbridos pueden contener una o más CDR de 5A2.

5 La invención también incluye las secuencias de ácidos nucleicos que codifican parte o el total de las cadenas liviana y pesada y las CDR de la presente invención. Las secuencias de ácidos nucleicos preferidas de acuerdo con la invención incluyen la SEQ ID NO: 9 (que codifica la región variable de la cadena liviana de 1F11), SEQ ID NO: 10 (que codifica la región variable de la cadena liviana de 1F11), SEQ ID NO: 19 (que codifica la región variable de la cadena pesada de 2F4), y SEQ ID NO: 20 (que codifica la región variable de la cadena liviana de 2F4). Las secuencias de ácidos nucleicos preferidas que codifican diversas CDR incluyen la SEQ ID NO: 21 (que codifica CDRH1 de 1F11), SEQ ID NO: 22 (que codifica CDRH2 de 1F11), SEQ ID NO: 23 (que codifica CDRH3 de 1F11), SEQ ID NO: 24 (que codifica CDRL1 de 1F11), SEQ ID NO: 25 (que codifica CDRL2 de 1F11), SEQ ID NO: 26 (que codifica CDRL3 de 1F11), SEQ ID NO: 27 (que codifica CDRH1 de 2F4), SEQ ID NO: 28 (que codifica CDRH2 de 2F4), SEQ ID NO: 29 (que codifica CDRH3 de 2F4), SEQ ID NO: 30 (que codifica CDRL1 de 2F4), SEQ ID NO: 31 (que codifica CDRL2 de 2F4) y SEQ ID NO: 32 (que codifica CDRL3 de 2F4). Otras secuencias de ácidos nucleicos preferidas de acuerdo con la invención incluyen la SEQ ID NO: 41 (que codifica la región variable de la cadena pesada 5A2), SEQ ID NO: 42 (que codifica la región variable de la cadena liviana 5A2), SEQ ID NO: 43 (que codifica CDRH1 de 5A2), SEQ ID NO: 44 (que codifica CDRH2 de 5A2), SEQ ID NO: 45 (que codifica CDRH3 de 5A2), SEQ ID NO: 46 (que codifica CDRL1 de 5A2), SEQ ID NO: 47 (que codifica CDRL2 de 5A2), SEQ ID NO: 48 (que codifica CDRL3 de 5A2). Debido a la redundancia del código genético, existirán variantes de estas secuencias que codifican las mismas secuencias de aminoácidos.

35

Las variantes de anticuerpos también están incluidas dentro del alcance de la invención. En consecuencia, las

variantes de las secuencias mencionadas en la solicitud también están incluidas dentro del alcance de la invención. Dichas variantes se pueden originar debido a la degeneración del código genético, como se mencionó anteriormente. En forma
5 alternativa, se pueden producir variantes naturales debido a errores de transcripción o traducción. Una variante de 2F4 también se describe en la presente. Esta variante comprende dos residuos adicionales de serina en el extremo C-terminal de la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 2F4 (SEQ ID
10 NO: 17). En consecuencia, esta variante de 2F4 consiste en una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos enumerado en la SEQ ID NO:49 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos enumerado en la SEQ ID NO: 18. La secuencia de ácidos nucleicos que codifica la cadena pesada de la variante
15 está enumerada en la SEQ ID NO:50. En consecuencia, los anticuerpos que comprenden la cadena pesada de la variante de 2F4 (SEQ ID NO: 49) están incluidos dentro del alcance de la invención.

20 Otras variantes de las secuencias del anticuerpo que tienen mejor afinidad se pueden obtener usando métodos conocidos en la técnica y están incluidas dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, se pueden usar sustituciones de aminoácidos para obtener anticuerpos con mejor afinidad
25 adicional. Alternativamente, se puede usar la optimización de codón de la secuencia de nucleótidos para mejorar la eficiencia de traducción del sistema de expresión para la producción del anticuerpo.

30 Con preferencia, dichas secuencias de la variante del anticuerpo compartirá 70% o más (es decir, 80, 85, 90, 95, 97, 98, 99% o más) de identidad de secuencia con las secuencias mencionadas en la solicitud. Con preferencia dicha identidad de secuencia se calcula con respecto a la longitud completa de
35 la secuencia de referencia (es decir, la secuencia mencionada en la solicitud). Con preferencia, el porcentaje de identidad, mencionado en la presente, es como se determina usando la

versión BLAST 2,1,3 mediante los parámetros predeterminados especificados por NCBI (el National Center for Biotechnology Information; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) [matriz Blosum 62; penalidad de apertura de brecha=11 y penalidad de extensión de brecha=1].

Además se incluyen dentro del alcance de la invención los vectores, por ejemplo vectores de expresión, que comprenden una secuencia de ácidos nucleicos de acuerdo con la invención. Las células transformadas con dichos vectores también están incluidas dentro del alcance de la invención.

La invención también se refiere a los anticuerpos monoclonales que se unen a un epítopo capaz de unirse al anticuerpo monoclonal 1F11 o 2F4. La invención también se refiere a los anticuerpos monoclonales que se unen a un epítopo capaz de unir el anticuerpo monoclonal 5A2.

Los anticuerpos monoclonales y recombinantes son particularmente útiles para la identificación y purificación de los polipéptidos individuales u otros antígenos contra los que se dirigen. Los anticuerpos de la invención tienen utilidad adicional ya que se pueden emplear como reactivos en inmunoensayos, radioinmunoensayos (RIA) o ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA). En estas aplicaciones, los anticuerpos se pueden marcar con un reactivo detectable en forma analítica tal como un radioisótopo, una molécula fluorescente o una enzima. Los anticuerpos también se pueden usar para la identificación y caracterización molecular (mapeo de epítopo) de los antígenos.

Los anticuerpos de la invención se pueden acoplar a un fármaco para la administración a un sitio de tratamiento o acoplado a una marca detectable para facilitar la imagen de un sitio que comprende células de interés, tal como las células infectadas con hCMV. Los métodos para acoplar anticuerpos a los fármacos y marcas detectables son bien conocidos en la

técnica, tal como los métodos para imágenes que usan marcas detectables. Se pueden emplear anticuerpos marcados en una amplia variedad de ensayos, que emplean una amplia variedad de marcas. Se puede facilitar la detección de la formación de un

5 complejo de anticuerpo-antígeno entre un anticuerpo de la invención y un epítopo de interés (un epítopo de hCMV) por la unión de una sustancia detectable al anticuerpo. Los medios de detección adecuados incluyen el uso de marcas tales como radionucleidos, enzimas, coenzimas, sustancias fluorescentes,

10 sustancias quimioluminiscentes, cromógenos, sustratos enzimáticos o cofactores, inhibidores de enzimas, complejos de grupos prostéticos, radicales libres, partículas, colorantes y similares. Los ejemplos de enzimas adecuadas incluyen peroxidasa de rábano, fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, o

15 acetilcolinesterasa; los ejemplos de complejos del grupo prostético adecuados incluyen estreptavidina/biotina y avidina/biotina; los ejemplos de materiales fluorescentes adecuados incluyen umbeliferona, fluoresceína, isotiacianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina de

20 fluoresceína, cloruro de dansilo o ficoeritrina; un ejemplo de un material luminescente es luminol; los ejemplos de materiales bioluminiscentes incluyen luciferasa, luciferina y aequorina; y los ejemplos de material radiactivo adecuado incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S o ^3H . Dichos reactivos marcados se pueden usar en una

25 variedad de ensayos bien conocidos, tales como radioinmunoensayos, inmunoensayos enzimáticos, por ejemplo, ELISA, inmunoensayos fluorescentes y similares. Ver por ejemplo, referencias 15-18.

30 Un anticuerpo de acuerdo con la invención se puede conjugar con un residuo terapéutico tal como una citotoxina, un agente terapéutico o un ion metálico radiactivo o radioisótopo. Los ejemplos de radioisótopos incluyen, pero sin limitación, I-131, I-123, I-125, Y-90, Re-188, Re-186, At-211,

35 Cu-67, Bi-212, Bi-213, Pd-109, Tc-99, In-111, y similares. Dichos conjugados de anticuerpos se pueden usar para modificar una respuesta biológica deseada; el residuo farmacológico no

se interpreta como limitación a los agentes terapéuticos químicos clásicos. Por ejemplo, el residuo farmacológico puede ser una proteína o polipéptido que posee una actividad biológica deseada. Dichas proteínas pueden incluir, por ejemplo, una toxina tal como abrina, ricina A, exotoxina de pseudomonas o toxina de difteria.

Las técnicas para conjugar dicho residuo terapéutico a los anticuerpos son bien conocidas. Ver, por ejemplo, Arnon et al. (1985) " Monoclonal Antibodies for Immunotargeting of Drugs in Cancer Therapy" en *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, ed. Reisfeld et al. (Alan R. Liss, Inc.), pp. 243-256; ed. Hellstrom et al. (1987) "Antibodies for Drug Delivery," en *Controlled Drug Delivery*, ed. Robinson et al. (2d ed; Marcel Dekker, Inc.), pp. 623-653; Thorpe (1985) "Antibody Carriers of Cytotoxic Agents in Cancer Therapy: A Review," en *Monoclonal Antibodies '84: Biological and Clinical Applications*, ed. Pinchera et al. pp. 475-506 (Editrice Kurtis, Milano, Italy, 1985); "Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy," in *Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy*, ed. Baldwin et al. (Academic Press, New York, 1985), pp. 303-316; y Thorpe et al. (1982) *Immunol. Rev.* 62:119-158.

Alternativamente, un anticuerpo se puede conjugar a un segundo anticuerpo para formar un heteroconjugado de anticuerpo como se describe en la referencia 19. Además, se pueden usar ligadores entre las marcas y los anticuerpos de la invención [20]. Los anticuerpos o, sus fragmentos de unión al antígeno se pueden marcar con yodo, indio, ytrio radiactivo u otra partícula radiactiva conocida en el arte [21]. El tratamiento puede consistir en una combinación de tratamiento con anticuerpos conjugados y no conjugados administrados en forma simultánea o posterior [22, 23].

35

Los anticuerpos de la invención se pueden unir a un soporte sólido.

En forma adicional, los anticuerpos se pueden modificar químicamente, por ejemplo, por conjugación covalente a un polímero por conjugación covalente a un polímero para aumentar su vida media circulante. Los polímeros y métodos preferidos para unirlos a los péptidos, se muestran en referencias 24-27. Los polímeros preferidos son polioles polioxietilados y polietilenglicol (PEG). PEG es soluble en agua a temperatura ambiente y tiene la fórmula general: $R(O-CH_2-CH_2)_n-O-R$ donde R puede ser hidrógeno, o un grupo protector tal como un grupo alquilo o alcanol. Con preferencia, el grupo protector tiene entre 1 y 8 carbonos, con más preferencia es metilo. El símbolo n es un número entero positivo, con preferencia entre 1 y 1.000, con más preferencia entre 2 y 500. El PEG tiene un peso molecular promedio preferido entre 1.000 y 40.000, con más preferencia entre 2.000 y 20.000, con máxima preferencia entre 3.000 y 12.000. Con preferencia, PEG tiene al menos un grupo hidroxilo, con más preferencia es un grupo hidroxilo terminal. Es un grupo hidroxilo que con preferencia se activa para reaccionar con un grupo amino libre sobre el inhibidor. Sin embargo, se considerará se puede variar que el tipo y la cantidad de los grupos reactivos obtener un anticuerpo de la presente invención /conjugado en forma covalente a PEG.

Los polioles polioxietilados hidrosolubles también son útiles en la presente invención. Estos incluyen sorbitol polioxietilado, glucosa polioxietilada, glicerol polioxietilado (POG) y similares. Se prefiere POG. Una razón es porque el esqueleto de glicerol del glicerol polioxietilado es el mismo esqueleto que el del natural, por ejemplo, en animales y seres humanos en mono, di, triglicéridos. En consecuencia, esta ramificación no necesariamente se observa como un agente extraño en el cuerpo. El POG tiene un peso molecular preferido en el mismo rango que el PEG. La estructura para POG se muestra en la referencia 28, y una descripción de conjugados de POG/IL-2 se halla en la referencia 24.

Otro sistema de administración del fármaco para aumentar la vida media circulatoria es el liposoma. Los métodos de preparar sistemas de administración liposomales se describen en las referencias 29, 30 y 31. Otros sistemas de administración de fármacos son conocidos en el arte y se describen en, por ejemplo, las referencias 32 y 33.

Los anticuerpos de la invención con preferencia se proporcionan en forma purificada. Normalmente, el anticuerpo estará presente en una composición que está sustancialmente libre de otros polipéptidos *por ejemplo*, donde menos de 90% (en peso), usualmente menos de 60% y más usualmente menos de 50% de la composición está compuesta de otros polipéptidos.

Los anticuerpos de la invención pueden inmunogénicos en huéspedes no humanos (o heterólogos) *por ejemplo* en ratones. En particular, los anticuerpos pueden tener un idiotipo que es inmunogénico en huéspedes no humanos, pero no en un huésped humano. Los anticuerpos de la invención para uso en humanos incluyen los que no se pueden obtener de huéspedes tales como ratones, cabras, conejos, ratas, mamíferos no primates, etc. y no se pueden obtener por humanización o de xeno-ratones.

Los anticuerpos de la invención pueden ser de cualquier isotipo (*por ejemplo* IgA, IgG, IgM es decir, una cadena pesada α , γ o μ), pero generalmente son IgG. Dentro del isotipo de IgG, los anticuerpos pueden ser de subclase IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. Los anticuerpos de la invención pueden tener una cadena liviana κ o λ .

Producción de anticuerpos

Los anticuerpos monoclonales de acuerdo con la invención se pueden obtener por alguno de los métodos conocidos en la técnica. La metodología general para obtener anticuerpos monoclonales usando la tecnología del hibridoma es bien conocida [34, 35]. Con preferencia, se usa el método

alternativo de immortalización EBV descrito en la referencia 36.

Mediante el método descrito en la referencia [34,35], las células B productoras del anticuerpo de la invención se pueden transformar con EBV en presencia de un activador de células B policlonal. La transformación con EBV es una técnica estándar y se puede adaptar fácilmente para incluir activadores de las células B policlonales.

Se pueden añadir estimulantes adicionales del crecimiento y diferenciación celular durante la etapa de transformación para mejorar adicionalmente la eficiencia. Estos estimulantes pueden ser citoquinas tales como IL-2 y IL-15. En un aspecto particularmente preferido, se añade IL-2 durante la etapa de immortalización para mejorar adicionalmente la eficiencia de la immortalización, pero su uso no es esencial.

Las células B immortalizadas producidas mediante estos métodos se pueden cultivar usando métodos conocidos en la técnica y anticuerpos aislados a partir de ellos.

Los anticuerpos monoclonales también se pueden purificar, si se desea, mediante filtración, centrifugación y varios métodos cromatográficos tales como HPLC o cromatografía de afinidad. Las técnicas para la purificación de anticuerpos monoclonales, que incluyen técnicas para producir anticuerpos de calidad farmacéutica, son bien conocidos en la técnica.

Los fragmentos de los anticuerpos monoclonales de la invención se pueden obtener a partir de los anticuerpos monoclonales por métodos que incluyen la digestión con enzimas, tales como pepsina o papaína, y/o por escisión de enlaces disulfuro por reducción química. Alternativamente, los fragmentos de los anticuerpos monoclonales se pueden obtener por la clonación y expresión de parte de las secuencias de la cadena pesada o liviana. Los "fragmentos" de anticuerpo

incluyen los fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv. La invención también abarca fragmentos Fv de cadena única (scFv) derivados de las cadenas pesada y liviana de un anticuerpo monoclonal de la invención *por ejemplo*, la invención incluye un scFv que
 5 comprende las CDR de un anticuerpo de la invención. También se incluyen los monómeros y dímeros de cadena pesada o liviana así como los anticuerpos de cadena simple, *por ejemplo*, Fv de cadena simple en el que los dominios variables de cadena pesada y liviana se unen por un péptido ligador.

10

Se pueden usar técnicas estándares de biología molecular para preparar secuencias de ADN que codifican los anticuerpos o fragmentos de los anticuerpos de la presente invención. Las secuencias de ADN deseadas se pueden sintetizar por completo o
 15 en parte usando técnicas de síntesis de oligonucleótidos. Se pueden usar las técnicas de mutagénesis dirigida al sitio y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) según sea apropiado.

20

Se puede usar cualquier sistema célula huésped/vector para la expresión de las secuencias de ADN que codifican las moléculas del anticuerpo de la presente invención o sus fragmentos. Los sistemas bacterianos, *por ejemplo E. coli*, y otros sistemas microbianos, en parte, para la expresión de los fragmentos de anticuerpo tales como los fragmentos Fab y
 25 F(ab')₂, y especialmente los fragmentos Fv y fragmentos de cadena simple del anticuerpo, *por ejemplo*, los Fv de cadena simple. Se pueden usar sistemas de expresión de célula huésped eucariótica, *por ejemplo* mamífero para la producción de moléculas de anticuerpos más grandes, que incluyen moléculas
 30 de anticuerpo completas. Las células huésped de mamífero, adecuadas incluyen células CHO, HEK293T, PER.C6, de mieloma o hibridoma.

35

La presente invención también proporciona un proceso para la producción de una molécula de anticuerpo de acuerdo con la presente invención que comprende cultivar una célula huésped que comprende un vector de la presente invención en

condiciones adecuadas para producir la expresión de la proteína a partir del ADN que codifica la molécula de anticuerpo de la presente invención, y aislar la molécula del anticuerpo.

5

La molécula de anticuerpo puede comprende solo un polipéptido de la cadena pesada o liviana, en tal caso solo se necesita usar una secuencia codificadora del polipéptido de la cadena pesada o cadena liviana para transfectar las células huésped. Para la producción de los productos que comprenden las cadenas pesada y liviana, la línea celular se puede transfectar con dos vectores, un primer vector que codifica un polipéptido de la cadena liviana y un segundo vector que codifica un polipéptido de la cadena pesada. Alternativamente, se puede usar un solo vector, el vector que incluye las secuencias que codifican los polipéptidos de la cadena liviana y cadena pesada.

10

Alternativamente, los anticuerpos de acuerdo con la invención se pueden producir por i) expresión de una secuencia de ácidos nucleicos de acuerdo con la invención en una célula y ii) aislar el producto del anticuerpo expresado. En forma adicional, el método puede incluir iii) purificar el anticuerpo.

15

20

25

Detección y aislamiento de las células B

Se identifican células B transformadas que producen anticuerpos de la especificidad de antígeno deseada y luego se pueden producir los clones de células B individuales a partir de las células positivas.

30

La etapa de detección se puede llevar a cabo por ELISA, por la tinción de tejidos o células (que incluyen las células transfectadas), un ensayo de neutralización o uno de numerosos métodos diferentes conocidos en la técnica para identificar la especificidad de antígeno deseada. El ensayo se puede

35

seleccionar sobre la base del simple reconocimiento de antígeno, o se puede seleccionar sobre la base de una función deseada *por ejemplo*, para seleccionar anticuerpos neutralizantes más que solo anticuerpos de unión al antígeno, para seleccionar anticuerpos que pueden cambiar características de células específicas, tales como sus cascadas de señalización, sus formas, sus tasas de crecimiento, sus capacidades de influir en otras células, sus respuestas a la influencia por otras células o por otros reactivos o por un cambio de las condiciones, sus estados de diferenciación, etc.

La etapa de clonación para separar clones individuales de la mezcla de células positivas se puede llevar a cabo usando dilución límite, micromanipulación, depósito de células únicas por clasificación celular u otro método conocido en la técnica. Con preferencia la clonación se lleva a cabo usando dilución límite.

Los clones de las células B inmortalizadas de la invención se pueden usar de varias maneras *por ejemplo*, como una fuente de anticuerpos monoclonales, como una fuente de ácido nucleico (ADN o ARNm) que codifica un anticuerpo monoclonal de interés, para investigación, etc.

La invención proporciona una composición que comprende linfocitos B de memoria inmortalizados, en donde los linfocitos producen anticuerpos con alta potencia neutralizante específica para hCMV, y en donde los anticuerpos se producen a razón de ≥ 5 pg por célula por día. La invención también proporciona una composición que comprende clones de linfocitos B de memoria inmortalizados, en donde los clones producen un anticuerpo monoclonal con una alta afinidad específica para hCMV, y en donde el anticuerpo se produce a razón de $\geq 10^N$ ng por clon por día. Con preferencia dichos clones producen un anticuerpo monoclonal con una alta potencia para neutralizar la infección con hCMV.

Los clones de B cell inmortalizados preferidos de acuerdo con la invención son 1F11 y 2F4. Los clones preferidos adicionales sone 5A2 y 9A11.

5

Epitopes

Como mencionó anteriormente, los anticuerpos de la invención se pueden usar para mapear los epitopes a los que se unen. Los solicitantes han descubierto que los anticuerpos 1F11, 2F4, 5A2 y 9A11 que neutralizan la infección con hCMV de las células endoteliales, células epiteliales, células retinianas y células dendríticas se dirigen hacia un epitope hallado en una combinación de UL130 y UL131A. Si bien los solicitantes no desean estar ligados por esta teoría, se considera que los anticuerpos 1F11 y 2F4 se unen a un epitope conformacional formado por estas dos proteínas. También se considera que 5A2 y 9A11 también se unen a un epitope conformacional formado por UL130 y UL131A.

20

Debido al hecho de que 1F11, 2F4, 5A2 y 9A11 no neutralizan la infección de los fibroblastos, se postula que estos anticuerpos reconocen un epitope diferente a los anticuerpos monoclonales humanos 10C6, 5F1, 6B4 y 7H3. Además, se considera que los anticuerpos monoclonales 10C6, 5F1, 7H3 y 6B4 se unen a un epitope funcional de gB.

25

Los epitopes reconocidos por estos anticuerpos pueden tener numerosos usos. Los epitopes y mimotopos en forma purificada o sintética se pueden usar para originar respuestas inmunes (es decir, como una vacuna o para la producción de anticuerpos para otros usos) o para analizar el suero del paciente para determinar anticuerpos que reaccionan inmunológicamente con los epitopes o mimotopos. Con preferencia, dicho epitope o mimotopo, o antígeno que comprende dicho epitope o mimotopo se usa como una vacuna para originar una respuesta inmune. Los anticuerpos de la invención

30

35

también se pueden usar en un método para controlar la calidad de las vacunas, en particular para examinar que el antígeno de una vacuna contenga el epítopo inmunogénico correcto en la conformación correcta.

5

Los epítopos también pueden ser útiles para seleccionar ligandos que se unen a dichos epítopos. Dichos ligandos con preferencia bloquean los epítopos y así previenen la infección. Dichos ligandos están comprendidos dentro del
10 alcance de la invención.

Expresión recombinante

Los linfocitos B de memoria inmortalizados de la
15 invención también se pueden usar como fuente de ácidos nucleicos para la clonación de los genes del anticuerpo para la posterior expresión recombinante. La expresión de las fuentes recombinantes es más común para los fines farmacéuticos que la expresión de las células B o hibridomas
20 *por ejemplo*, por razones de estabilidad, reproducibilidad, facilidad de cultivo, etc.

En consecuencia la invención proporciona un método para preparar una célula recombinante, que comprende las etapas de:
25 (i) obtener uno o más ácidos nucleicos (*por ejemplo*, genes de la cadena pesada y/o liviana) a partir del clon de células B que codifica el anticuerpo de interés; y (ii) insertar el ácido nucleico en un huésped de expresión para permitir la expresión del anticuerpo de interés en ese huésped.

30

De modo similar, la invención proporciona un método para preparar una célula recombinante, que comprende las etapas de:
(i) secuenciar ácido nucleico(s) a partir del clon de células B que codifica el anticuerpo de interés; y (ii) usar la
35 información de secuencia de la etapa (i) para preparar los ácidos nucleico(s) para insertar en un huésped de expresión en

un huésped de expresión para permitir la expresión del anticuerpo de interés en este huésped.

La invención también proporciona un método de preparar una célula recombinante, que comprende la etapa de transformar una célula huésped con uno o más ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo monoclonal de interés, en donde los ácidos nucleicos son ácidos nucleicos que derivaron de un clon de células B inmortalizadas de la invención. En consecuencia, los procedimientos para preparar primero los ácidos nucleico(s) y luego usarlos para transformar una célula huésped se pueden realizar en momentos diferentes en lugares diferentes (*por ejemplo*, en países diferentes).

Estas células recombinantes de la invención luego se pueden usar para fines de expresión y cultivo. Estos son particularmente útiles para la expresión de los anticuerpos en la producción farmacéutica en gran escala. Estos también se pueden usar como el ingrediente activo de una composición farmacéutica. Se pueden usar cualquiera de las técnicas de cultivo, que incluyen pero sin limitación a cultivos estáticos, cultivos en frasco giratorio, fluido ascítico, cartucho del biorreactor de tipo de fibra hueca, minifermentador modular, tanque agitado, cultivo microportador, perfusión nuclear cerámica, etc.

Los métodos para obtener y secuenciar genes de inmunoglobulina a partir de las células B son bien conocidas en la técnica *por ejemplo* ver referencia 37).

30

El huésped de expresión es con preferencia una célula eucariótica, que incluye células de levadura y animales, en particular células de mamífero (*por ejemplo* células CHO, células humanas tales como PER.C6 [Crucell; referencia 38] o células HKB-11 [Bayer; referencias 39&40], células de mieloma [41 & 42], etc.), así como células vegetales. Los huéspedes de expresión preferidos pueden glicosilar el anticuerpo de la

invención, particularmente con las estructuras de carbohidrato que no son inmunogénicas por sí mismas en los seres humanos. Se prefieren los huéspedes de expresión que pueden crecer en medio libre de suero. Se prefieren los huéspedes de expresión
 5 que pueden crecer en cultivos sin la presencia de los productos derivados de animal.

El huésped de expresión se puede cultivar para dar una línea celular.

10

La invención proporciona un método para preparar una o más moléculas de ácidos nucleicos (*por ejemplo*, genes de cadena pesada y liviana) que codifican un anticuerpo de interés, que comprende las etapas de: (i) preparar un clon de
 15 células B inmortalizadas de acuerdo con la invención; (ii) obtener el ácido nucleico del clon de células B que codifica el anticuerpo de interés. La invención también proporciona un método para obtener una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un anticuerpo de interés, que comprende las etapas
 20 de: (i) preparar un clon de células B inmortalizadas de acuerdo con la invención; (ii) secuenciar el ácido nucleico proveniente del clon de células B que codifica el anticuerpo de interés.

25

La invención también proporciona un método de preparar moléculas de ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo de interés, que comprende la etapa de obtener el ácido nucleico de un clon de células B que fue obtenido a partir de las células B transformadas de la invención. En consecuencia los
 30 procedimientos para obtener primero el clon de células B y luego preparar los ácidos nucleicos a partir de este se pueden realizar en tiempos muy diferentes por gente diferente en lugares diferentes (*por ejemplo*, en países diferentes).

35

La invención proporciona un método para preparar un anticuerpo (*por ejemplo*, para uso farmacéutico), que comprende las etapas de: (i) obtener y/o secuenciar uno o más ácidos

nucleicos (*por ejemplo*, genes de cadena pesada y liviana) a partir del clon de células B seleccionado que expresa el anticuerpo de interés; (ii) insertar los ácidos nucleicos o usar los ácidos nucleicos para preparar un huésped de expresión que puede expresar el anticuerpo de interés; (iii) cultivar o subcultivar el huésped de expresión en condiciones en que se expresa el anticuerpo de interés; y, opcionalmente, (iv) purificar el anticuerpo de interés.

La invención también proporciona un método de preparar un anticuerpo que comprende las etapas de: cultivar o subcultivar una población de células huésped de expresión en condiciones en que se expresa el anticuerpo de interés y, opcionalmente, purificar el anticuerpo de interés, en donde dicha población de células huésped de expresión ha sido preparada por (i) provisión de ácidos nucleicos que codifican célula B seleccionada para el anticuerpo de interés que es producida por una población de linfocitos B de memoria preparados como se describió anteriormente, (ii) inserción de los ácidos nucleicos en un huésped de expresión que puede expresar el anticuerpo de interés, y (iii) cultivo o sub-cultivo de los huéspedes de expresión que comprenden dichos ácidos nucleicos insertados para producir dicha población de células huésped de expresión. En consecuencia, los procedimientos para preparar primero el huésped de expresión recombinante y luego cultivarlo para expresar el anticuerpo se pueden realizar en tiempos muy diferentes por gente diferente en lugares diferentes (*por ejemplo*, en países diferentes).

Composiciones farmacéuticas

El uso de anticuerpos como ingrediente activo de los productos farmacéuticos está generalizado en la actualidad, incluyendo los productos Herceptin™ (trastuzumab), Rituxan™, Campath™, Remicade™, ReoPro™, Mylotarg™, Zevalin™, Omalizumab, Synagis™ (Palivizumab), Zenapax™ (daclizumab), etc.

La invención en consecuencia proporciona una composición farmacéutica que contiene los anticuerpos de la invención y/o el ácido nucleico que codifica dichos anticuerpos y/o células B inmortalizadas que expresan dichos anticuerpos y/o los epitopes reconocidos por los anticuerpos de la invención. Una composición farmacéutica también puede contener un portador farmacéuticamente aceptable para permitir la administración. El portador no debería inducir por sí mismo la producción de anticuerpos dañinos para el individuo que recibe la composición y no debería ser tóxico. Los portadores adecuados pueden ser grandes, macromoléculas de metabolismo lento tales como proteínas, polipéptidos, liposomas, polisacáridos, ácido polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácidos y partículas virales inactivas.

15

Se pueden usar sales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, sales ácidas minerales, tales como clorhidratos, bromhidratos, fosfatos y sulfatos, o sales de ácidos orgánicos, tales como acetatos, propionatos, malonatos y benzoatos.

20

Los portadores farmacéuticamente aceptables en las composiciones terapéuticas pueden contener adicionalmente líquidos tales como agua, solución salina, glicerol y etanol. En forma adicional, pueden estar presentes elementos auxiliares, tales como agentes humectantes o emulsionantes o sustancias amortiguadoras de pH en dichas composiciones. Dichos portadores permite que las composiciones farmacéuticas sean formuladas como comprimidos, pastillas, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, emulsiones y suspensiones, para la ingestión por el paciente.

25

30

Las formas preferidas para la administración incluyen las formas adecuadas para la administración parenteral, por ejemplo, por inyección o infusión, por ejemplo, por inyección en bolo o infusión continua. Cuando el producto es para la inyección o infusión, puede adoptar la forma de una

35

suspensión, solución o emulsión en un vehículo oleoso o acuoso y puede contener agentes de formulación, tales como agentes de suspensión, conservantes, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, la molécula de anticuerpo puede estar en
5 forma seca, para la reconstitución antes de usar con un líquido estéril apropiado.

Una vez formuladas, las composiciones de la invención se pueden administrar directamente al sujeto. Se prefiere que las
10 composiciones se adapten para la administración a los sujetos humanos.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden administrar por numerosas vías que incluyen, pero sin
15 limitación, las vías oral, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intramedular, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, transdérmica, transcutánea, tópica, subcutánea, intranasal, enteral, sublingual, intravaginal o rectal. También se pueden usar hipospray para administrar las
20 composiciones farmacéuticas de la invención. Normalmente, las composiciones terapéuticas se pueden preparar como soluciones inyectables, como soluciones o suspensiones líquidas. También se pueden preparar formas sólidas adecuadas para la solución, o suspensión, vehículos líquidos antes de la inyección.

25

La administración directa de las composiciones generalmente se obtendrán por inyección, subcutánea, intraperitoneal, intravenosa o intramuscular, o se administra al espacio intersticial de un tejido. Las composiciones
30 también se pueden administrar en una lesión. El tratamiento de dosificación puede ser un esquema de dosis única o un esquema de dosis múltiples. Los agentes farmacéuticos basados en anticuerpos conocidos proporcionan guía relacionada con la frecuencia de administración *por ejemplo*, si un agente
35 farmacéutico se debe administrar en forma diaria, semanal, mensual, etc. La frecuencia y dosis también puede depender de la gravedad de síntomas.

Las composiciones de la invención se pueden preparar en varias formas. Por ejemplo, las composiciones se pueden preparar como inyectables, sean como soluciones o suspensiones líquidas. También se pueden preparar formas sólidas adecuadas para la solución, o suspensión, vehículos líquidos antes de la inyección (por ejemplo, una composición liofilizada, como Synagis™ y Herceptin™, para la reconstitución con agua estéril que contiene un conservante). La composición se puede preparar para la administración tópica por ejemplo, como un ungüento, crema o polvo. La composición se puede preparar para administración oral por ejemplo, como un comprimido o una cápsula, como un spray, o como un jarabe (opcionalmente saborizada). La composición se puede preparar para la administración pulmonar por ejemplo, como un inhalador, usando un polvo fino o un spray. La composición se puede preparar como un supositorio o pesario. La composición se puede preparar para administración nasal, aural u ocular por ejemplo, como gotas. La composición puede estar en la forma de kit, diseñada de modo que una composición combinada se reconstituya antes de la administración a un paciente. Por ejemplo, un anticuerpo liofilizado se puede proporcionar en forma de kit con agua estéril o un buffer estéril.

Será apreciado que el ingrediente activo de la composición será una molécula de anticuerpo. Como tal, será susceptible a la degradación en el aparato gastrointestinal. En consecuencia, si la composición se administra por una vía que úsase aparato gastrointestinal, la composición necesitará contener agentes que protejan el anticuerpo de la degradación pero que liberan el anticuerpo una vez que ha sido absorbido del aparato gastrointestinal.

Una descripción completa de los portadores farmacéuticamente aceptables está disponible en Gennaro (2000) Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20th edición, ISBN: 0683306472.

Las composiciones farmacéuticas de la invención generalmente tienen un pH entre 5,5 y 8,5, con preferencia entre 6 y 8, y con más preferencia aproximadamente 7. El pH se puede mantener por el uso de un buffer. La composición puede ser estéril y/o libre de pirógenos. La composición puede ser isotónica con respecto a los seres humanos. Las composiciones farmacéuticas de la invención con preferencia se suministran en recipientes sellados herméticamente.

10

Las composiciones farmacéuticas incluirán una cantidad efectiva de uno o más anticuerpos de la invención y/o una o más células B inmortalizadas de la invención y/o un polipéptido que comprende un epítopo que une un anticuerpo de la invención es decir, una cantidad que es suficiente para tratar, mejorar o prevenir una enfermedad o patología deseada, o para exhibir un efecto terapéutico detectable. Los efectos terapéuticos también incluyen la reducción de los síntomas físicos. La cantidad efectiva precisa para un sujeto particular dependerá de su tamaño y salud, la naturaleza y grado de la patología, y los agentes terapéuticos o combinación de agentes terapéuticos seleccionados para la administración. La cantidad efectiva para una situación dada se determina por experimentación de rutina y está dentro del criterio de un médico. Para los fines de la presente invención, una dosis efectiva generalmente será de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, o aproximadamente 0,05 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de las composiciones de la presente invención en el individual al que se la administra. Los agentes farmacéuticos conocidos basados anticuerpo proporcionan una orientación en este aspecto por ejemplo, Herceptin™ se administra por infusión intravenosa de una solución de 21 mg/ml, con una dosis de carga inicial de de 4 mg/kg peso corporal y una dosis de mantenimiento semanal de 2 mg/kg de peso corporal; Rituxan™ se administra en forma semanal a razón de 375 mg/m²; etc.

35

Las composiciones pueden incluir más de un (*por ejemplo*, 2, 3, 4, 5, etc.) anticuerpo de la invención, en particular cuando dichos anticuerpos se unen a diferentes antígenos (o a diferentes epitopes del mismo antígeno) para proporcionar un efecto terapéutico aditivo o sinérgico. Por ejemplo, un anticuerpo puede unirse a una combinación de UL130-UL131A (o complejo) mientras que otro se puede unir a gH. En un ejemplo adicional, un anticuerpo se puede unir a la combinación de UL130-UL131A (o complejo) mientras que otro se puede unir a gB. En consecuencia, un anticuerpo se puede dirigir al mecanismo que media la infección de fibroblastos, mientras que otro anticuerpo se puede dirigir al mecanismo que media la infección de las células endoteliales. Para el efecto clínico óptimo puede ser ventajoso dirigir ambos mecanismos de infección y mantenimiento de hCMV.

Los anticuerpos de la invención se pueden administrar (sea combinados o separados) con otros agentes terapéuticos *por ejemplo*, con compuestos quimioterapéuticos, con radioterapia, etc. Los compuestos terapéuticos preferidos incluyen compuestos antivirales tales como ganciclovir, foscarnet y cidofovir. Dicha terapia de combinación proporciona una mejora aditiva o sinérgica de la eficacia terapéutica respecto a los agentes terapéuticos individuales cuando se administran solos. El término "sinergia" se usa para describir un efecto combinado de dos o más agentes activos que es mayor de la suma los efectos individuales de cada agente respectivo. En consecuencia, cuando el efecto combinado de dos o más agentes produce una "inhibición sinérgica" de una actividad o proceso, se considera que la inhibición de la actividad o proceso es mayor de la suma de los efectos inhibidores de cada agente activo respectivo. El término "efecto terapéutico sinérgico" se refiere a un efecto terapéutico deseado observado con una combinación de dos o más terapias en donde el efecto terapéutico (medido por alguno de varios parámetros) es mayor de la suma de los efectos

terapéuticos individuales observados con las terapias individual respectivas.

Los anticuerpos se pueden administrar a los pacientes que no han demostrado previamente respuesta al tratamiento para la infección con hCMV, es decir, han mostrado ser refractarios al tratamiento anti-hCMV. Dichos tratamiento puede incluir tratamiento previo con un agente antiviral. Esto puede deberse, por ejemplo, a la infección con una cepa resistente antiviral de hCMV.

En las composiciones de la invención que incluyen los anticuerpos de la invención, los anticuerpos con preferencia constituyen al menos 50% en peso (por ejemplo, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% o mas) de la proteína tota de la composición. Los anticuerpos en consecuencia están en forma purificada.

La invención proporciona un método de preparar un agente farmacéutico, que comprende las etapas de: (i) preparar un anticuerpo de la invención; y (ii) mezclar el anticuerpo purificado con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.

La invención también proporciona un método para preparar un agente farmacéutico, que comprende la etapa de mezclar un anticuerpo con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal que fue obtenido de una célula B transformada de la invención. En consecuencia los procedimientos para obtener primero el anticuerpo monoclonal y luego preparar el agente farmacéutico se puede realizar en tiempos muy diferentes por gente diferente en diferentes lugares (por ejemplo, en países diferentes).

35

Como alternativa para administrar anticuerpos o células B con fines terapéuticos, es posible administrar ácido nucleico

(típicamente ADN) a un sujeto que codifica el anticuerpo monoclonal (o su fragmento activo) de interés, de modo que el ácido nucleico se pueda expresar en el sujeto *in situ* para proporcionar un efecto terapéutico deseado. La terapia génica y los vectores de administración de ácido nucleico adecuados con son conocidos en la técnica.

Las composiciones de la invención pueden ser composiciones inmunogénicas, y con más preferencia son composiciones de vacuna que comprenden un antígeno que comprende un epítopo hallado en una combinación de proteínas de hCMV UL130 y UL131A. Las composiciones alternativas pueden comprender (i) un antígeno que comprende un epítopo hallado en una combinación de proteínas de hCMV UL130 y UL131A, y (ii) un antígeno que comprende un epítopo hallado en hCMV gB. Las vacunas de acuerdo con la invención puede ser profiláctica (es decir, para prevenir la infección) o terapéutica (es decir, para tratar la infección), pero normalmente será profiláctica.

Las composiciones pueden incluir un antimicrobiano, en particular si se envasa en un formato de dosis múltiples.

Las composiciones pueden comprender detergente *por ejemplo*, un Tween (polisorbato), tal como Tween 80. Los detergentes en general están presentes en niveles bajos *por ejemplo*, <0,01%.

Las composiciones pueden incluir sales de sodio (*por ejemplo*, cloruro de sodio) para dar tonicidad. Una concentración de 10 ± 2 mg/ml de NaCl es típica.

Las composiciones pueden comprender un alcohol de azúcar (*por ejemplo*, manitol) o un disacárido (*por ejemplo*, sacarosa o trehalosa) *por ejemplo*, a razón de alrededor de 15-30 mg/ml (*por ejemplo*, 25 mg/ml), en particular si estos se van a liofilizar o si ellos incluyen un material que ha sido reconstituido de material liofilizado. El pH de una

composición para la liofilización se puede ajustar a alrededor de 6,1 antes de la liofilización.

Las composiciones de la invención también pueden comprender uno o más agentes inmunorreguladores. Con preferencia, uno o más de los agentes inmunorreguladores incluyen un adyuvante.

Las composiciones de la invención con preferencia estimularán una respuesta inmune mediada por células así como la respuesta inmune humoral para dirigirse efectivamente a una infección con hCMV. Esta respuesta inmune con preferencia inducirá anticuerpos de larga duración (por ejemplo, neutralizantes) y una inmunidad mediada por células que puede responder rápidamente después de la exposición al hCMV.

Tratamientos y usos médicos

Los anticuerpos de la invención o sus fragmentos se pueden usar para el tratamiento de la infección con hCMV, para la prevención de infección con hCMV o para el diagnóstico de la infección con hCMV.

Los métodos de diagnóstico pueden incluir poner en contacto un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo con una muestra. Dichas muestras pueden ser muestras de tejidos tomadas de, por ejemplo, glándulas salivales, pulmón, hígado, páncreas, riñón, oído, ojo, placenta, tracto alimentario, corazón, ovarios, pituitaria, adrenales, tiroides, cerebro o piel. Los métodos de diagnóstico también pueden incluir la detección de un complejo de antígeno/anticuerpo.

La invención en consecuencia proporciona (i) un anticuerpo de acuerdo con la invención, (ii) un clon de células B inmortalizadas de acuerdo con la invención, (iii) un epítopo capaz de unir uno de 1F11 o 2F4, o (iv) un epítopo capaz de unir uno de 5A2 o 9A11, para uso en terapia.

También se proporciona un método de tratar un paciente que comprende administrar a este paciente (i) un anticuerpo de acuerdo con la invención, (ii) un epítopo capaz de unir uno de 1F11 o 2F4, o (iii) un epítopo capaz de unir uno de 5A2 o 9A11.

La invención también proporciona el uso de (i) un anticuerpo de acuerdo con la invención, (ii) un clon de células B inmortalizadas de acuerdo con la invención, (iii) un epítopo capaz de unir uno de 1F11 o 2F4, (iv) un anticuerpo que une a un epítopo capaz de unir uno de 1F11 o 2F4, (v) un epítopo capaz de unir uno de 5A2 o 9A11, o (vi) un anticuerpo que une a un epítopo capaz de unir uno de 5A2 o 9A11, para la fabricación de un medicamento para la prevención o tratamiento de la infección con hCMV.

La invención proporciona una composición de la invención para uso como un medicamento. También proporciona el uso de un anticuerpo de la invención y/o una proteína que comprende un epítopo al que se une un anticuerpo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un paciente y/o diagnóstico de un paciente. También proporciona un método para tratar un sujeto y/o realizar el diagnóstico de un sujeto, que comprende la etapa de administrar a ellos una composición de la invención. El sujeto es con preferencia un ser humano. Un modo de examinar la eficacia del tratamiento terapéutico incluye controlar los síntomas de la enfermedad después de la administración de la composición de la invención. El tratamiento puede ser un esquema de dosis única o un esquema de dosis múltiple. La invención es útil para la infección con CMV.

Con preferencia, se administra un anticuerpo, un clon de células B inmortalizada, epítopo o composición de acuerdo con la invención a grupos de sujetos, en particular con riesgo o susceptibles a la infección con hCMV. Dichos grupos de sujetos

incluyen sujetos inmunocomprometidos, tales como los que padecen de HIV o se someten a terapia inmunosupresiva, tales como los pacientes de trasplante.

5 Los anticuerpos de la invención se pueden usar para la inmunización pasiva.

Los anticuerpos y sus fragmentos descriptos en la presente invención también se pueden usar en un kit para el
10 diagnóstico de infección con hCMV.

Los epitopes capaces de unir el anticuerpo monoclonal 1F11 o 2F4 descriptos en la presente invención también se pueden usar en un kit para controlar la eficacia de los
15 procedimientos de vacunación por la detección de la presencia de anticuerpos anti-hCMV protectores.

Los epitopes capaces de unir el anticuerpo monoclonal 5A2 o 9A11 descriptos en la presente invención también se pueden
20 usar en un kit para controlar la eficacia de los procedimientos de vacunación por la detección de la presencia de anticuerpos protectores anti-hCMV.

Los anticuerpos y sus fragmentos descriptos en la
25 presente invención también se pueden usar en un kit para controlar la fabricación de vacunas con la inmunogenicidad deseada.

La invención también proporciona un método de preparar un
30 agente farmacéutico, que comprende la etapa de mezclar un anticuerpo monoclonal con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, en donde el anticuerpo monoclonal es un anticuerpo monoclonal que fue obtenido de un huésped de expresión de la invención. En consecuencia, los
35 procedimientos para obtener primero el anticuerpo monoclonal (por ejemplo, expresarlo y/o purificarlo) y luego mezclarlo con portador farmacéutico se puede realizar en tiempos muy

diferentes por gente diferente en diferentes lugares (*por ejemplo, en países diferentes*).

A partir de una célula B transformada de la invención, se
5 pueden realizar varias etapas de cultivo, sub-cultivo,
clonación, sub-clonación, secuenciación, preparación de ácido
nucleico etc. con el fin de perpetuar el anticuerpo expresado
por la célula B transformada, con opcional optimización en
cada etapa. En una forma de realización preferida, los métodos
10 anteriores también comprenden técnicas de optimización (*por
ejemplo, maduración de afinidad u optimización*) aplicada a los
ácidos nucleicos que codifican el anticuerpo. La invención
abarca todos las células, ácidos nucleicos, vectores,
secuencias, anticuerpos etc. usados y preparados durante
15 dichas etapas.

En todos estos métodos, el ácido nucleico usado en el
huésped de expresión se puede manipular entre las etapas (ii)
y (iii) para insertar, suprimir o corregir determinadas
20 secuencias de ácidos nucleicos. Los cambios de dicha
manipulación incluyen, pero sin limitación, cambios para
introducir sitios de restricción, corregir el uso de codón,
agregar u optimizar las secuencias reguladoras de la
transcripción y/o traducción, etc. También se es posible
25 cambiar el ácido nucleico para alterar los aminoácidos
codificados. Por ejemplo, puede ser útil para introducir una o
más (*por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, etc.*)
sustituciones de aminoácidos, una o más (*por ejemplo, 1, 2, 3,
4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, etc.*) supresiones de aminoácidos y/o una
30 o más (*por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, etc.*)
inserciones de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos del
anticuerpo. Dichas mutaciones puntuales pueden modificar las
funciones efectoras, afinidad de unión al antígeno,
modificaciones pos-traduccionales, inmunogenicidad, etc.,
35 pueden introducir los aminoácidos para la unión de los grupos
covalentes (*por ejemplo, marcas*) o pueden introducir marcas
(*por ejemplo, con fines de purificación*). Las mutaciones se

pueden introducir en sitios específicos o se pueden introducir al azar, seguido por la selección (*por ejemplo*, evolución molecular).

5 **General**

El término "que comprende" abarca "que incluye" así como "que consiste" *por ejemplo*, una composición "que comprende" X puede consistir exclusivamente en X o puede incluir algo
10 adicional de *por ejemplo*, X + Y.

La palabra "sustancialmente" no excluye "completamente" *por ejemplo*, una composición que está "sustancialmente libre" de Y puede estar completamente libre de Y. Cuando es
15 necesario, la palabra "sustancialmente" se puede omitir de la definición de la invención.

El término "aproximadamente" en relación con un valor numérico x significa, *por ejemplo*, $x \pm 10\%$.
20

El término "enfermedad" como se usa en la presente se considera generalmente sinónimo, y se usa en forma indistinta con los términos "trastorno" y "patología" (como una patología médica), ya que todas reflejan una condición anormal del
25 cuerpo humano o animal o de una de sus partes altera el funcionamiento normal, normalmente se manifiesta por signos y síntomas distintivos, y producen que el ser humano o animal tenga una duración o calidad de vida reducidas.

Como se usa en la presente, la referencia a "tratamiento" de un paciente incluye prevención y profilaxis. El término "paciente" significa todos los mamíferos que incluyen los seres humanos. Los ejemplos de pacientes incluyen los seres humanos, vacas, perros, gatos, caballos, cabras, ovejas,
35 cerdos y conejos. Con preferencia, el paciente es un ser humano.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra un SDS-PAGE que demuestra que los anticuerpos monoclonales humanos (1) 1F11 y (2) 2F4 precipitan complejos de las proteínas de hCMV, mientras que las IgG irrelevantes no lo hacen.

La Figura 2 muestra un análisis de FACS que demuestra que los anticuerpos monoclonales humanos (A) 1F11 y 2F4 y (B) 5A2 y 9A11 reconocen un epítopo conformacional obtenido por los productos génicos de UL130 y UL131A.

La Figura 3 muestra las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de las cadenas pesada y liviana de 1F11 y 2F4. Las secuencias de CDR están en negrita.

La Figura 4 muestra un análisis de FACS que demuestra que los anticuerpos monoclonales humanos 7H3, 10C6, 5F1 y 6B4 reconocen un epítopo gB de la proteína hCMV.

La Figura 5 muestra las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de las cadenas pesada y liviana de 5A2. Las secuencias de CDR están en negrita.

MODOS DE LLEVAR A CABO LA INVENCION

Ejemplo 1: Clonación de las células B y detección de la actividad neutralizante de hCMV

Se identificaron dos dadores con títulos altos de anticuerpo neutralizante hCMV en suero. Se aislaron células B de memoria y se immortalizaron usando EBV y CpG como se describió en la referencia 36. En breves palabras, las células B de memoria se aislaron por selección negativa usando microesferas de CD22 seguido por la eliminación de IgM⁺, IgD⁺ IgA⁺ de células B usando anticuerpos específicos y clasificación celular. Las células clasificadas (IgG⁺) se

inmortalizaron con EBV en presencia de CpG 2006 y células mononucleares alogeneicas irradiadas. Los cultivos replicados que contienen 50 células B de memoria cada uno se montaron en veinte placas en U de 96 pocillos. Después de dos semanas se
 5 recolectaron los sobrenadantes del cultivo y se analizaron su capacidad de neutralizar la infección con hCMV de los fibroblastos o las células epiteliales en ensayos separados. Se aislaron los clones de células B a partir de cultivos policlonales positivos como se describe en la referencia 36.
 10 Se determinaron las concentraciones de IgG en el sobrenadante de los clones seleccionados usando un ELISA específico de IgGA.

Para el ensayo de neutralización viral se mezcló una
 15 cantidad titulada de cepa clínica de hCMV con un volumen igual de sobrenadante de cultivo o con diluciones de suero humano que contiene los anticuerpos neutralizantes. Después de 1 hora de incubación a temperatura ambiente la mezcla se agregó a monocapas confluentes de células endoteliales (*por ejemplo,*
 20 células HUVEC) o fibroblastos en placas de extremo inferior plano de 96 pocillos y se incubó a 37°C durante dos días. SE descartó el sobrenadante, las células se fijaron en metanol frío y se tiñeron con una mezcla de anticuerpos monoclonales de ratón a antígenos tempranos de hCMV, seguido por una Ig
 25 anti-ratón de cabra marcada con fluoresceína. Las placas se analizaron usando un microscopio de fluorescencia. En ausencia de anticuerpos neutralizantes, las células infectadas eran ~1000/campo, mientras que en presencia de concentraciones de saturación de los anticuerpos neutralizantes la infección fue
 30 completamente inhibida. El título neutralizante se indica como la concentración del anticuerpo ($\mu\text{g/ml}$) que da un 50% de reducción de infección con hCMV.

La Tabla 2 muestra que se han identificado tres tipos
 35 diferentes de anticuerpos; los que pueden neutralizar la infección de fibroblastos, los que pueden neutralizar la infección de células endoteliales y los que pueden neutralizar

la infección de ambos. Esto concuerda con los datos previos de que diferentes proteínas son responsables del tropismo hacia un tipo de célula particular [7]. Además de la neutralización de las células endoteliales, se observó que 1F11 y 2F4 neutralizan la infección de células epiteliales tales como células retinianas, y células dendríticas (datos no mostrados).

Tabla 2

Clon	Especificidad	50% de neutralización (µg/ml)	
		Fibroblastos	Células endoteliales
1F11	UL130/UL131A	*	0,001
2F4	UL130/UL131A	*	0,003
5A2	UL130/UL131A	*	0,002
9A11	UL130/UL131A	*	0,001
7H3	gB	2	*
10C6	gB	0,3	0,3
5F1	gB	0,3	0,3
6B4	gB	0,5	2
Cytotec [^]		5000	50
Suero del dador		33	1

*no neutralización en la mayor concentración analizada (es decir, >2 µg/ml).

[^] Cytotect (Biotest) es una mezcla de IgG hiperinmune a hCMVG.

Algunos anticuerpos neutralizaron la infección en fibroblastos y células endoteliales a concentraciones de IgG que varían de 0,3 a 0,5 µg/ml. Otros anticuerpos (1F11, 5A2, 9A11 y 2F4) no consiguieron neutralizar la infección con hCMV de fibroblastos, pero neutralizaron la infección de células endoteliales y lo hicieron a concentraciones extremadamente bajas que varían de 0,001 a 0,004 µg/ml (más de 1000 veces más potente que los anticuerpos previamente conocidos).

Cabe indicar que debido a la caracterización inicial, se ha determinado que 5F1 se une a un epítopo de gB más que de gH. Esto es compatible con los resultados que demuestran que el bloqueo de gB permite la neutralización de la infección de fibroblastos observada para 7H3, 10C6 y 6B4.

Ejemplo 2: Identificación de los antígenos blanco reconocidos por los anticuerpos monoclonales

10

Los fibroblastos MRC-9 humanos se infectaron con una cepa clínica de hCMV. Después de 3 días las células se marcaron metabólicamente con ^{35}S metionina y cisteína. Después de la predepuración del lisado humano se añadieron los anticuerpos monoclonales humanos 1F11 y 2F4 y los inmunocomplejos precipitaron por la adición de microesferas de Proteína A y se resolvieron en SDS-PAGE (Figura 1). Se usó un anticuerpo de IgG monoclonal humana con especificidad irrelevante como control negativo. Los resultados muestran que los anticuerpos monoclonales humanos 1F11 y 2F4 precipitan complejos de las proteínas de CMV.

20

Para mapear la especificidad se construyeron vectores de expresión de los anticuerpos monoclonales humanos que codifican péptidos señal que carecen de las proteínas de hCMV UL128 Δ 1-27, UL130 Δ 1-25 y UL131A Δ 1-18 marcadas con hemaglutinina (HA). Las células HEK293T se transfectaron con estos vectores solos o en combinación. Después de 36 h, las células se fijaron, permeabilizaron y tiñeron con un anticuerpo anti-HA (para controlar la eficiencia de transfección) y con anticuerpos monoclonales seguido por una IgG anti-humana de cabra. Se usó una IgG HuMab con especificidad irrelevante como control negativo. La Figura 2A muestra que los anticuerpos monoclonales humanos 1F11 y 2F4 reconocen un epítopo conformacional obtenido por los productos génicos de UL130 y UL131A. La Figura 2B muestra que los anticuerpos monoclonales humanos 5A2 y 9A11 reconocen un

25

30

35

epitope conformacional obtenido por los productos génicos de UL130 y UL131A.

Conclusiones

5

Los resultados anteriores definen dos anticuerpos monoclonales humanos que son capaces de neutralizar con alta potencia y selectividad la infección con hCMV de las células endoteliales humanas. Para identificar el epitope reconocido, se analizaron los anticuerpos para determinar su capacidad para inmunoprecipitar proteínas a partir de las células infectadas con hCMV (Figura 1). Los Mab 1F11 y 2F4 humanos precipitaron varias proteínas con pesos moleculares aparentes de ~15, 33-35 y ~100 KDa. Estos patrones son compatibles con la precipitación de un complejo que contiene gH, gL y UL128, UL130 y posiblemente UL131A.

15

Para definir mejor el blanco de estos anticuerpos nosotros caracterizamos su capacidad para teñir las células HEK293T transfectadas con los vectores que codifican UL128, UL130 y UL131A marcados con HA. Como se muestra en la Figura 2A, 1F11 y 2F4 se tiñeron solo las células que coexpresan UL130 y UL131A, lo que sugieren que estos reconocen un epitope conformacional determinado por los dos productos génicos. Esta conclusión está respaldada por el hecho de que estos anticuerpos no reaccionan en una transferencia western con los lisados de células infectadas o transfectadas corridas en condiciones reductoras, desnaturizantes (datos no mostrados).

25

30

Se observaron resultados similares para 5A2 y 9A11. La Figura 2b muestra que estos anticuerpos tiñeron solo las células que coexpresan UL130 y UL131A, lo que sugieren que estos reconocen un epitope conformacional determinado por los dos productos génicos.

35

Ejemplo 3: Identificación adicional de los antígenos blanco reconocidos por los anticuerpos monoclonales

5 Para mapear las especificidades de los anticuerpos monoclonales humanos que neutralizan la infección de fibroblastos, se construyó un vector de expresión que codifica gB de longitud completa. Las células HEK293T se transfectaron con este vector. Después de 36 horas, las células se fijaron, 10 permeabilizaron y tiñeron con los anticuerpos monoclonales humanos (HuMab) seguidos por IgG anti-humano de cabra. La Figura 4 muestra que los anticuerpos monoclonales 7H3, 10C6, 5F1, y 6B4 (pero no un anticuerpo IgG de una especificidad irrelevante) específicamente tiñeron las células transfectadas 15 con gB, lo que indica que estos reconocen un epítopo de gB. Cabe indicar, que los anticuerpos monoclonales 10C6, 5F1 y 6B4 neutralizan la infección de fibroblastos y células endoteliales, mientras que el anticuerpo monoclonal 7H3 neutraliza la infección de fibroblastos (pero no de las 20 células endoteliales). Esta noción sugiere que los anticuerpos monoclonales 10C6, 5F1, y 6B4 se unen a un epítopo funcional de gB que es distinto del epítopo unido por el anticuerpo monoclonal 7H3.

25 Se entenderá que la invención ha sido descripta solo a modo de ejemplo y se pueden realizar modificaciones mientras que permanecen dentro del alcance y el espíritu de la invención.

- [1] Plachter, B., C. Sinzger, and G. Jahn. 1996. Cell types involved in replication and distribution of human cytomegalovirus. *Adv Virus Res* 46:195-261.
- [2] Gerna, G., E. Percivalle, F. Baldanti, and M.G. Revello. 2002. Lack of transmission to polymorphonuclear leukocytes and human umbilical vein endothelial cells as a marker of attenuation of human cytomegalovirus. *J Med Virol* 66:335-339.
- [3] Adler, B., L. Scrivano, Z. Ruzcics, B. Rupp, C. Sinzger, and U. Koszinowski. 2006. Role of human cytomegalovirus UL131A in cell type-specific virus entry and release. *J Gen Virol* 87:2451-2460.
- [4] Gerna, G., E. Percivalle, D. Lilleri, L. Lozza, C. Fornara, G. Hahn, F. Baldanti, and M.G. Revello. 2005. Dendritic-cell infection by human cytomegalovirus is restricted to strains carrying functional UL131-128 genes and mediates efficient viral antigen presentation to CD8+ T cells. *J Gen Virol* 86:275-284.
- [5] Hahn, G., M.G. Revello, M. Patrone, E. Percivalle, G. Campanini, A. Sarasini, M. Wagner, A. Gallina, G. Milanesi, U. Koszinowski, F. Baldanti, and G. Gerna. 2004. Human cytomegalovirus UL131-128 genes are indispensable for virus growth in endothelial cells and virus transfer to leukocytes. *J Virol* 78:10023-10033.
- [6] Patrone, M., M. Secchi, L. Fiorina, M. Ierardi, G. Milanesi, and A. Gallina. 2005. Human cytomegalovirus UL130 protein promotes endothelial cell infection through a producer cell modification of the virion. *J Virol* 79:8361-8373.
- [7] Wang, D., and T. Shenk. 2005. Human cytomegalovirus virion protein complex required for epithelial and endothelial cell tropism. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:18153-18158.
- [8] Wang, D., and T. Shenk. 2005. Human cytomegalovirus UL131 open reading frame is required for epithelial cell tropism. *J Virol* 79:10330-10338.
- [9] Nigro, G., S.P. Adler, R. La Torre, and A.M. Best. 2005. Passive immunization during pregnancy for congenital cytomegalovirus infection. *N Engl J Med* 353:1350-1362.
- [10] Borucki, M.J., J. Spritzler, D.M. Asmuth, J. Gnann, M.S. Hirsch, M. Nokta, F. Aweeka, P.I. Nadler, F. Sattler, B. Alston, T.T. Nevin, S. Owens, K. Waterman, L. Hubbard, A. Caliendo, and R.B. Pollard. 2004. A phase II, double-masked, randomized, placebo-controlled evaluation of a human monoclonal anti-Cytomegalovirus antibody (MSL-109) in combination with standard therapy versus standard therapy alone in the treatment of AIDS patients with Cytomegalovirus retinitis. *Antiviral Res* 64:103-111.
- [11] Hamilton, A.A., D.M. Manuel, J.E. Grundy, A.J. Turner, S.I. King, J.R. Adair, P. White, F.J. Carr, and W.J. Harris. 1997. A humanized antibody against human cytomegalovirus (CMV) gpUL75 (gH) for prophylaxis or treatment of CMV infections. *J Infect Dis* 176:59-68.
- [12] Lefranc, MP. *et al.* 2003 IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains. *Dev Comp Immunol.* 27(1):55-77.
- [13] Lefranc, MP. 1997. Unique database numbering system for immunogenetic analysis. *Immunology Today*, 18:509.
- [14] Lefranc, MP. 1999. The IMGT unique numbering for Immunoglobulins, T cell receptors and Ig-like domains. *The Immunologist*, 7:132-136.
- [15] US 3,766,162
- [16] US 3,791,932
- [17] US 3,817,837
- [18] US 4,233,402
- [19] US 4,676,980
- [20] US 4,831,175
- [21] US 5,595,721
- [22] WO00/52031
- [23] WO00/52473
- [24] US 4,766,106
- [25] US 4,179,337
- [26] US 4,495,285

- [27] US 4,609,546
- [28] Knauf *et al.* (1988) *J. Bio. Chem.* 263:15064-15070
- [29] Gabizon *et al.* (1982) *Cancer Research* 42:4734
- [30] Cafiso (1981) *Biochem Biophys Acta* 649:129
- 5 [31] Szoka (1980) *Ann. Rev. Biophys. Eng.* 9:467
- [32] Poznansky *et al.* (1980) *Drug Delivery Systems* (R.L. Juliano, ed., Oxford, N.Y.) pp. 253-315
- [33] Poznansky (1984) *Pharm Revs* 36:277
- [34] Kohler, G. and Milstein, C., 1975, *Nature* 256:495-497.
- 10 [35] Kozbar *et al.* 1983, *Immunology Today* 4:72.
- [36] WO2004/076677
- [37] Chapter 4 of *Kuby Immunology* (4th edition, 2000; ASIN: 0716733315
- [38] Jones *et al.* *Biotechnol Prog* 2003,19(1):163-8
- [39] Cho *et al.* *Cytotechnology* 2001,37:23-30
- 15 [40] Cho *et al.* *Biotechnol Prog* 2003,19:229-32
- [41] US 5,807,715
- [42] US 6,300,104

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo neutralizante que tiene potencia alta para neutralizar el citomegalovirus humanos.

5

2. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo tiene una afinidad de 10^{-8} M o menos.

3. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la concentración del anticuerpo requerido para el 50% de neutralización de una cepa clínica de hCMV es 0,1 µg/ml o menos.

4. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene una afinidad por hCMV al menos 50 veces mayor que la de MSL109.

5. Un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde dicho anticuerpo es específico para una combinación de las proteínas de hCMV de UL130/UL131A.

6. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende una o más de las SEQ ID NOs: 1-6, 11-16 o 33-38.

7. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende una cadena pesada que comprende uno o más de las SEQ ID NOs: 1-3, 11-13 o 33-35.

8. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 1 para CDRH1, SEQ ID NO: 2 para CDRH2 y SEQ ID NO: 3 para CDRH3.

9. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende una cadena pesada que comprende SEQ ID NO: 11 para CDRH1, SEQ ID NO: 12 para CDRH2 y SEQ ID NO: 13 para CDRH3.

10. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende una cadena pesada que comprende SEQ ID NO: 33 para CDRH1, SEQ ID NO: 34 para CDRH2 y SEQ ID NO: 35 para CDRH3.

5 11. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende una cadena liviana que comprende uno o más de SEQ ID NOs: 4-6, 14-16 o 36-38.

10 12. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende una cadena liviana que comprende SEQ ID NO: 4 para CDRL1, SEQ ID NO: 5 para CDRL2 y SEQ ID NO: 6 para CDRL3.

15 13. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende una cadena liviana que comprende SEQ ID NO: 14 para CDRL1, SEQ ID NO: 15 para CDRL2 y SEQ ID NO: 16 para CDRL3.

20 14. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende una cadena liviana que comprende SEQ ID NO: 36 para CDRL1, SEQ ID NO: 37 para CDRL2 y SEQ ID NO: 38 para CDRL3.

15. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 8, en donde dicha cadena pesada tiene la secuencia enumerada en SEQ ID NO: 7.

25 16. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 9, en donde dicha cadena pesada tiene la secuencia enumerada en SEQ ID NO: 17.

30 17. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 10, en donde dicha cadena pesada tiene la secuencia enumerada en SEQ ID NO: 39.

35 18. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 12, en donde dicha cadena liviana tiene la secuencia enumerada en SEQ ID NO: 8.

19. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 13, en donde dicha cadena liviana tiene la secuencia enumerada en SEQ ID NO: 18.

5 20. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 14, en donde dicha cadena liviana tiene la secuencia enumerada en SEQ ID NO: 40.

10 21. Un anticuerpo de acuerdo con cualquier reivindicación precedente en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal humano.

15 22. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 15 o reivindicación 18, en donde dicho anticuerpo es anticuerpo monoclonal 1F11.

20 23. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 16 o reivindicación 19, en donde dicho anticuerpo es anticuerpo monoclonal 2F4.

24. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 17 o reivindicación 20, en donde dicho anticuerpo es anticuerpo monoclonal 5A2.

25 25. Un anticuerpo que se une a un epítopo capaz de unirse a un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 7 o reivindicación 11.

30 26. Un fragmento de un anticuerpo de acuerdo con cualquier reivindicación previa.

27. Un fragmento de acuerdo con la reivindicación 26 que es un fragmento Fab, Fab', F(ab')₂ o Fv.

35 28. Una molécula de ácido nucleico que codifica un anticuerpo o fragmento de acuerdo con cualquier reivindicación previa.

29. Una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 28, en donde dicha molécula de ácido nucleico comprende alguna de las SEQ ID NOs: 9, 10, 19, 20, 21-32, o
5 41-48.

30. Un vector que comprende una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 28 o reivindicación 29.
10

31. Una célula que comprende a vector de acuerdo con la reivindicación 30.

32. Un clon de células B inmortalizadas que expresa un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-25.
15

33. Un epítopo que se une a un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-25.
20

34. Un polipéptido inmunogénico que comprende un epítopo de acuerdo con la reivindicación 33.

35. Un método para producir anticuerpos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-25 que comprende (i) cultivar un clon de células B inmortalizadas de acuerdo con la reivindicación 10 y (ii) aislar los anticuerpos.
25

36. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-27, un ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 28 o reivindicación 29, un clon de células B inmortalizadas de acuerdo con la reivindicación 32 o un polipéptido inmunogénico de acuerdo con la reivindicación 34.
30

35

37. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 36 que comprende un primer anticuerpo o

fragmento específico para un primer epítope y segundo anticuerpo o fragmento específico para un segundo epítope.

38. Una composición farmacéutica de acuerdo con la
5 reivindicación 36 o reivindicación 37, que además comprende un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

39. Un anticuerpo o fragmento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-27, un ácido nucleico de acuerdo con
10 la reivindicación 28 o reivindicación 29, un clon de células B inmortalizadas de acuerdo con la reivindicación 32 o un polipéptido inmunogénico de acuerdo con la reivindicación 34 para el uso en terapia o diagnóstico.

40. Uso de un anticuerpo o fragmento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-27, un ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 28 o reivindicación 29, un clon de células B inmortalizadas de acuerdo con la reivindicación 32 o un polipéptido inmunogénico de acuerdo con la
20 reivindicación 34 (i) en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la infección con hCMV, o (ii) en una vacuna.

41. Uso de un primer anticuerpo o fragmento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-27 específico para un
25 primer epítope y un segundo anticuerpo o fragmento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-27 específico para un segundo epítope en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la infección con hCMV.

42. Uso de acuerdo con la reivindicación 40 o
30 reivindicación 41, en donde el paciente es refractario al tratamiento convencional contra hCMV.

43. Use de acuerdo con la reivindicación 40 o
35 reivindicación 41, en donde al paciente se le pre-administra, pos-administra o se administra simultáneamente un agente antiviral.

44. Uso de acuerdo con la reivindicación 43, en donde dicho agente antiviral se selecciona de ganciclovir, foscarnet o cidofovir.

5

45. Uso de acuerdo con la reivindicación 40 o reivindicación 41, en donde dicho paciente está inmunocomprometido.

10

46. Uso de acuerdo con la reivindicación 45, en donde dicho paciente tiene HIV o es paciente trasplantado.

15

47. Una composición de la reivindicación 37 o el uso de la reivindicación 41, en donde dicho primer anticuerpo o fragmento es específico para el complejo UL130/UL131A.

20

48. La composición o uso de la reivindicación 47, en donde dicho segundo anticuerpo o fragmento es específico para gH.

25

49. Un método para tratar un sujeto, que comprende la etapa de administrar una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 36-38 o 47-48.

30

50. Un kit para el diagnóstico de la infección con hCMV que comprende anticuerpos o fragmentos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-27 o el ácido nucleico de la reivindicación 28 o reivindicación 29.

35

51. Un método para preparar una célula recombinante, que comprende las etapas de: (i) secuenciar un ácido nucleico de un clon de células B definido en la reivindicación 32; (ii) usar la información de secuencia de la etapa (i) para preparar ácido nucleico para insertar en un huésped de expresión con el fin de permitir la expresión del anticuerpo de interés en este huésped.

52. El método de la reivindicación 51, en donde el ácido nucleico se manipula entre las etapas (i) y (ii) para introducir sitios de restricción, cambiar el uso de codón, y/u optimizar la transcripción y/o traducción de las secuencias reguladoras.

53. El método de la reivindicación 51, en donde dicha expresión del huésped es un célula eucariótica.

54. El método de la reivindicación 53, en donde dicha célula eucariótica es una célula de levadura, una célula animal o una célula vegetal.

55. El método de la reivindicación 54, en donde la célula animal es un célula de mamífero.

56. El método de la reivindicación 55, en donde la célula animal es una célula CHO o humana.

57. El método de la reivindicación 56, en donde la célula humana es una célula PER.C6, una célula HEK293T o una célula HKB-11.

58. Un método para producir anticuerpos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-25 que comprende cultivar o subcultivar un huésped de expresión que se puede obtener por el método de la reivindicación 51 en condiciones en que el anticuerpo de interés se expresa; y, opcionalmente, (iv) purificar el anticuerpo de interés.

59. Un método de selección de polipéptidos que puede inducir una respuesta inmune contra hCMV, que comprende seleccionar bibliotecas de polipéptido usando un anticuerpo o fragmento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-27.

60. Uso de un anticuerpo o fragmento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-27 para controlar la calidad de las vacunas anti-hCMV al examinar que el antígeno de dicha vacuna contenga el epítopo correcto en la conformación correcta.

61. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 40-46 en donde el anticuerpo previene la infección de las células endoteliales, células epiteliales tales como células retinianas y células mieloides tales como células dendríticas.

62. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la concentración del anticuerpo requerida para el 50% de neutralización de la infección de las células endoteliales, células epiteliales y células dendríticas por una cepa clínica de hCMV es 0,1 µg/ml o menos.

63. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 62, en donde la concentración del anticuerpo es 0,01 µg/ml o menos.

64. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 62, en donde las células epiteliales son células retinianas.

65. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 62, en donde el anticuerpo es específico para una combinación de las proteínas UL130/UL131A de hCMV.

66. Un epítopo que se une específicamente a un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-25 para uso (i) en terapia, (ii) en la fabricación de un medicamento para tratar la infección con hCMV o (iii) como una vacuna.

67. Un epítopo que se une específicamente a un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones

1-25 para identificar ligandos capaces de neutralizar la infección con hCMV.

68. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, en
5 donde la concentración del anticuerpo necesaria para el 50% de neutralización de la infección de células endoteliales, células epiteliales y células dendríticas por una cepa clínica de hCMV es 50 veces o más baja que la requerida por MSL-109.

RESUMEN

La invención se refiere a anticuerpos neutralizantes que son específicos para el citomegalovirus humano y se unen con
5 alta afinidad así como células B inmortalizadas que producen dichos anticuerpos. Los anticuerpos de la invención también tienen una alta potencia para la neutralización de la infección. La invención también se refiere a los epitopes que se unen a los anticuerpos así como al uso de los anticuerpos y
10 los epitopes en los métodos de detección así como en el diagnóstico y terapia de la enfermedad.

Figura 1

	1	2	3
175 -			
83 -			
62 -			
47.5 -			
32.5 -			
25 -			
16.5 -			

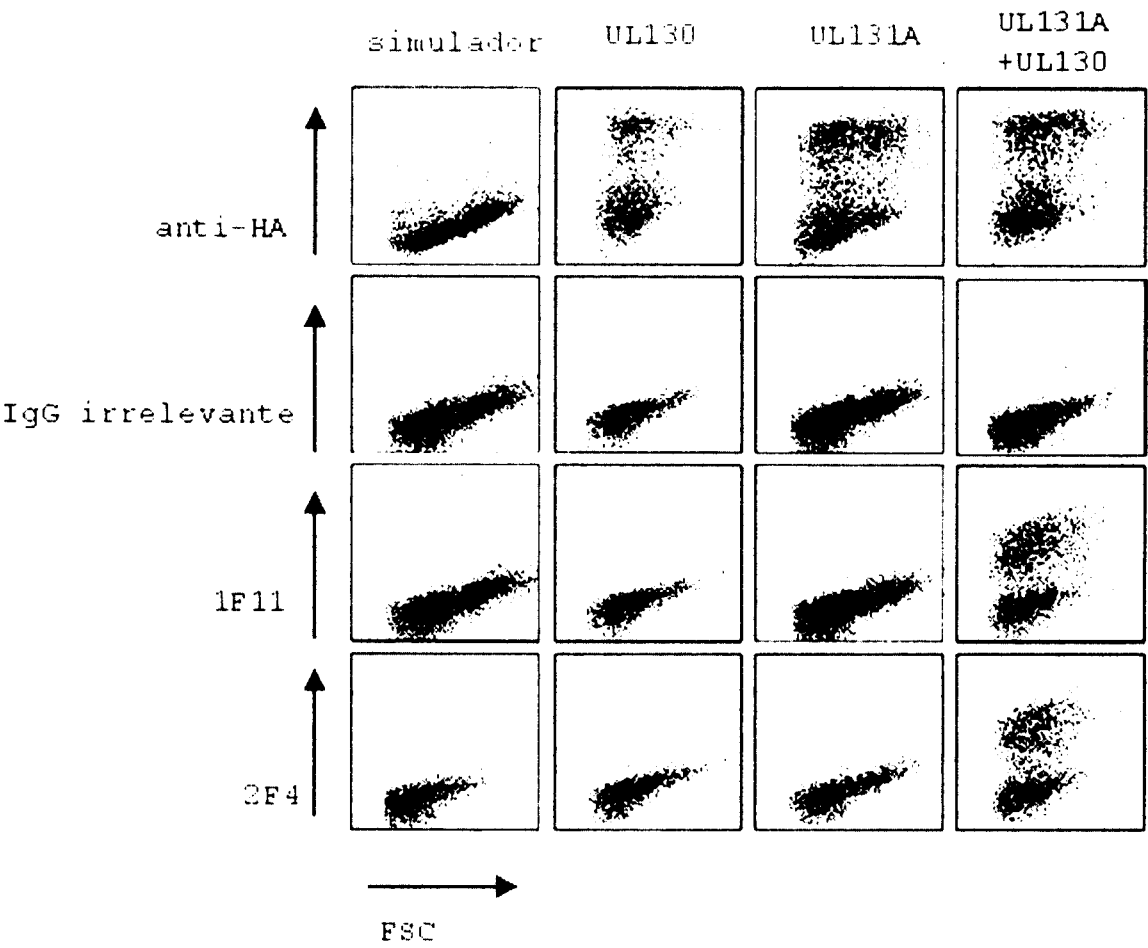
1. 1F11

2. 2F4

3. IgG irrelevante

Figura 2

A



B

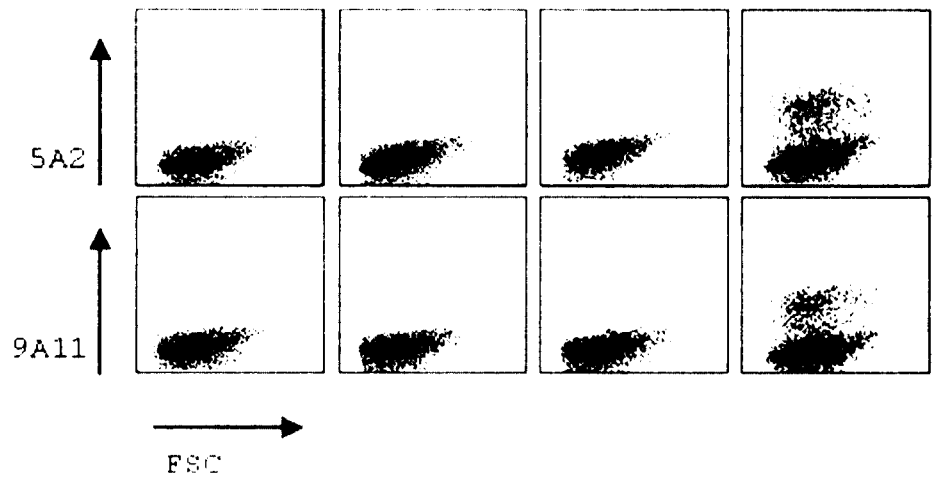


Figura 3**1F11-VH**

caggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccgtgagactc
 tcctgtgtggcctct**ggattcaccttcagttcctatgctatgcactgggtccgccaggctccggg**
 5 caaggggctggaatgggtgtcactt**atatcctttgatggagacaataaa**tactatgcagactccg
 tgaggggcccgattcacaatctccagagacagttcccagaagacgctctttctgcaaatgaacagc
 ctgagagttgaggacacggctatatattactgt**gcgagagaggagttagtcggattgatgcctcc**
ctactacaattatggtttggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgtctcctca

QVQLVESGGGVVQPGRSVRLSCVAS**GFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSLISFDGDNKYY**
 10 ADSVRGRFTISRDSQKTLFLQMNSLRVEDTAIYYC**AREELVGLMPPYYNYGLDVWGQGT**TVTVS
 S

1F11-VL

cagtctgtgttgacgcagccgccctcagtgtctgcgccccaggacagaaggtcaccatc
 15 tcctgctctggaagc**agctccaacattggaataatttt**gtatcctggtaccagcaactccccgg
 aacagcccccaaactcctcatttat**gacaatgat**aggcgaccctcagggattcctgaccgattct
 ctggctccaagtctgacacgtcagccaccctggtcacaccggactccagactggggacgaggcc
 gattactactgc**gaaacatgggatggcagcctgaatcctgctgtggtatt**cggcgaggaggaccag
 gctgaccgtccta

20 QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSS**SNIGNNFVSWYQQLPGTAPKLLIYDNDRR**PSGIP
 DRFSGSKSDTSATLVITGLQTGDEADYYC**ETWDGSLNPAVV**FGGGTRLTVL

2F4-VH

caggtgcagctggtggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactc
 25 tcctgtgcagcgtct**ggattcagtttcaatacatatggg**atgcactgggtccgccaggctccagg
 caaggggctggagtgggtggcagtt**atatgggatgatggaagtaaaatg**taccatgcggactccg
 tgaagggcccgattcaccatctccagagacaattccaaaaacacactgtatctccaaatgaacagt
 ctgagagcccaggatacggctgtgtattactgt**gcgagagacgaggggtgcaataatgctgcacgc**
catgactgactacggtttggacgtctggggccaagggaccacagtcaccgtct

30 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFSFNTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSKMYH**
 ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**ARDEGAIMLHAMTDYGLDVWGQGT**TVTV

2F4-VL

tcctatgagctgactcagccaccctcagtgtccgtgtccccaggacagacagccaccatc
 35 acctgctctggagata**aatttgggggatgagttt**gcttgctggtatcagcagaagccaggccagtc
 tcctgtgctggtcatctat**caggattcca**agcggccctcagggatccctgagcgattctctggct
 ccagctctgggaacacagccactctgaccatccgcgggaccaggctatggatgaggctgactac

tactgt**caggcgtgggacagcagcactgcccattatgtc**tttcggaactgggaccaagggtcacggt
ccta

SYELTQPPSVSVSPGQTATITCSGD**NLGDEF**ACWYQQKPGQSPVLVIY**QDS**KRPSGIPER
FSGSSSGNTATLTIRGTQAMDEADYYC**QAWDSSTA**HYVFGTGTKVTVL

Figura 4

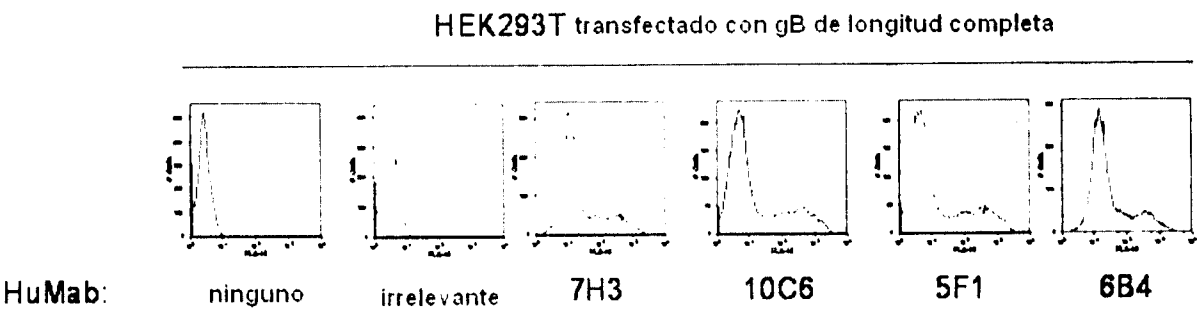


Figura 5

5A2 - VH

baggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaggaagcctgggtcctcgggtgaaggctc
 tctctcaaggcttct**ggaggcaccttcagcagctatgtt**atccactgggtgcgacaggccctgg
 5 acaacggcttgagtggatggggggg**atcatccctatctttaatacagca**aactacgcacagaagg
 tccaaggcagagtcacgattaccgcggacgaatccacgagcacagcctacatggagctgagcagc
 ctgaatctgaagacactgccatatattactgt**gcgagggattttctatcaggtcctatggaaat**
gccccgcggctactacggtttggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgtctcctca

10

2VQLVQSGAEVRKPGSSVKVSCKAS**GGTFSSYVI**HWVRQAPGQGLEWMGG**IIP**IFNTANY
 AQKVQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAIYY**CARDFLSGPMEMP**GGYYGLDVWGQTTVTV
 SS

15

5A2 - VK

gacatcgtgatgaccagctctccagactccctggctgtgtctctgggagagagggccacc
 atcaactgcaagtccagcc**cagagtgttttatacagttccaacaataagaactact**tagcttggtgta
 ccagcagaaaccaggacagcctcctaagctgctcatttact**tgggcatct**accgggaatccgggg
 tccctgaccgattcagtggcagcgggtctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcag
 20 gctgaagatgtggcagtttattactgt**cagcaatattatagta**ctcctatcaccttcggccaagg
 gacacgactggagattaaa

25

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS**QSVLYSSNNKN**YLAWYQQKPGQPPKLLIYW**ASTR**
 ESGVPRDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**QQYYSTPIT**FGQGRLEIK

SEQUENCE LISTING

<110> HUMABS LLC
 <120> HUMAN CYTOMEGALOVIRUS NEUTRALISING ANTIBODIES AND USE THEREOF
 <130> P045812WO
 <150> GB 0700133.2
 <151> 2007-01-04
 <160> 50
 <170> Seqwin99, version 1.02
 <210> 1
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> 1F11 CDRH1 amino acid sequence
 <400> 1
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
 1 5
 <210> 2
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> 1F11 CDRH2 amino acid sequence
 <400> 2
 Ile Ser Phe Asp Gly Asp Asn Lys
 1 5
 <210> 3
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> 1F11 CDRH3 amino acid sequence
 <400> 3
 Ala Arg Glu Glu Leu Val Gly Leu Met Pro Pro Tyr Tyr Asn Tyr Gly
 1 5 10 15
 Leu Asp Val
 <210> 4
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> 1F11 CDRL1 amino acid sequence
 <400> 4

PCT IB2008 001111 Sequence Listing

Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Phe
1 5

<210> 5
<211> 3
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 1F11 CDRL2 amino acid sequence

<400> 5
Asp Asn Asp
1

<210> 6
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 1F11 CDRL3 amino acid sequence

<400> 6
Glu Thr Trp Asp Gly Ser Leu Asn Pro Ala Val Val
1 5 10

<210> 7
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 1F11 heavy chain amino acid sequence

<400> 7
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ser Leu Ile Ser Phe Asp Gly Asp Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Glu Leu Val Gly Leu Met Pro Pro Tyr Tyr Asn Tyr Gly
100 105 110

Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 8
<211> 111
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 1F11 light chain amino acid sequence

<400> 8

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

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

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

Ile Tyr Asp Asn Asp Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Asp Thr Ser Ala Thr Leu Val Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

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

Asn Pro Ala Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 9

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 1F11 heavy chain nucleotide sequence

<400> 9

caggtgcagc	tgggtggagtc	tggggggaggc	gtgggtccagc	ctggggaggct	cgtagagactc	60
tcctgtgtgg	ccctctggatt	caccttcagt	tcctatgcta	tgcactgggt	ccgccaggct	120
ccgggcaagg	ggctggaatg	ggtgtcactt	atatccttg	atggagacaa	taaatactat	180
gcagactccg	tgagggggccg	attcacaatc	tccagagaca	gttcccagaa	gacgctcttt	240
ctgcaaata	acagcctgag	agttgaggac	acggctatat	attactgtgc	gagagaggag	300
ttagtcggat	tgatgcctcc	ctactacaat	tatggtttgg	acgtctgggg	ccaagggacc	360
acgggtcaccg	tctcctca					378

<210> 10

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 1F11 light chain nucleotide sequence

<400> 10

cagtctgtgt	tgacgcagcc	gccctcagtg	tctgcggccc	caggacagaa	ggtcaccatc	60
tcctgtctctg	gaagcagctc	caacattgga	aataattttg	tatcctggta	ccagcaactc	120
cccggaaacag	cccccaaact	cctcatttat	gacaatgata	ggcgaccctc	agggattcct	180
gaccgattct	ctgggtccaa	gtctgacacg	tcagccaccc	tggtcatcac	cggactccag	240
actgggggacg	aggccgatta	ctactgacgaa	acatgggatg	gcagcctgaa	tcctgtctgtg	300
gtattcggcg	gaggggaccag	gctgaccgtc	cta			333

<210> 11

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 2F4 CDRH1 amino acid sequence

<400> 11

Gly Phe Ser Phe Asn Thr Tyr Gly
1 5

<210> 12

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 2F4 CDRH2 amino acid sequence

<400> 12

Ile Trp Asp Asp Gly Ser Lys Met
1 5

<210> 13

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 2F4 CDRH3 amino acid sequence

<400> 13

Ala Arg Asp Glu Gly Ala Ile Met Leu His Ala Met Thr Asp Tyr Gly
1 5 10 15

Leu Asp Val

<210> 14

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 2F4 CDRL1 amino acid sequence

<400> 14

Asn Leu Gly Asp Glu Phe
1 5

<210> 15

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 2F4 CDRL2 amino acid sequence

<400> 15

Gln Asp Ser
1

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

PCT IB2008 001111 Sequence Listing

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 2F4 CDRL3 amino acid sequence

<400> 16

Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala His Tyr Val
1 5 10

<210> 17

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 2F4 heavy chain amino acid sequence

<400> 17

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Val Ile Trp Asp Asp Gly Ser Lys Met Tyr His Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Glu Gly Ala Ile Met Leu His Ala Met Thr Asp Tyr Gly
100 105 110

Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
115 120

<210> 18

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 2F4 light chain amino acid sequence

<400> 18

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Leu Gly Asp Glu Phe Ala
20 25 30

Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

PCT IB2008 001111 Sequence Listing

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Arg Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala His
85 90 95

Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

<210> 19
<211> 373
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 2F4 heavy chain nucleotide sequence

<400> 19
cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt cagtttcaat acatatggga tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatgggatg atggaagtaa aatgtaccat 180
gcggactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaaaaa cacactgtat 240
ctccaaatga acagtctgag agccgaggat acggctgtgt attactgtgc gagagacgag 300
ggtgcaataa tgctgcacgc catgactgac tacggtttgg acgtctgggg ccaagggacc 360
acagtcaccg tct 373

<210> 20
<211> 324
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 2F4 light chain nucleotide sequence

<400> 20
tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tccgtgtccc caggacagac agccaccatc 60
acctgtctctg gagataattt gggggatgag ttgtcttgct ggtatcagca gaagccaggc 120
cagtctcctg tgctggtcat ctatcaggat tccaagcggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccagctctgg gaacacagcc actctgacca tccgcgggac ccaggctatg 240
gatgaggctg actactactg tcaggcgtgg gacagcagca ctgcccatta tgtcttcgga 300
actgggacca aggtcaccgt ccta 324

<210> 21
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 1F11 CDRH1 nucleotide sequence

<400> 21
ggattcacct tcagttccta tgct 24

<210> 22
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 1F11 CDRH2 nucleotide sequence

<400> 22
atataccttg atggagacaa taaa 24

PCT IB2008 001111 Sequence Listing

<210> 23
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> 1F11 CDRH3 nucleotide sequence

 <400> 23
 gcgagagagg agttagtcgg attgatgcct ccctactaca attatggttt ggacgtc 57

 <210> 24
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> 1F11 CDRL1 nucleotide sequence

 <400> 24
 agctccaaca ttggaaataa tttt 24

 <210> 25
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> 1F11 CDRL2 nucleotide sequence

 <400> 25
 gacaatgat 9

 <210> 26
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> 1F11 CDRL3 nucleotide sequence

 <400> 26
 gaaacatggg atggcagcct gaatcctgct gtggta 36

 <210> 27
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> 2F4 CDRH1 nucleotide sequence

 <400> 27
 ggattcagtt tcaatacata tggg 24

 <210> 28
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> 2F4 CDRH2 nucleotide sequence

PCT IB2008 001111 Sequence Listing

<400> 28
 atatgggatg atggaagtaa aatg 24

<210> 29
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 2F4 CDRH3 nucleotide sequence

<400> 29
 gcgagagacg aggggtgcaat aatgctgcac gccatgactg actacggttt ggacgtc 57

<210> 30
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 2F4 CDRL1 nucleotide sequence

<400> 30
 aatttggggg atgagttt 18

<210> 31
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 2F4 CDRL2 nucleotide sequence

<400> 31
 caggattcc 9

<210> 32
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 2F4 CDRL3 nucleotide sequence

<400> 32
 caggcgtggg acagcagcac tgcccattat gtc 33

<210> 33
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> 5A2 CDRH1 amino acid sequence

<400> 33
 Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Val
 1 5

<210> 34
 <211> 8
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 5A2 CDRH2 amino acid sequence

<400> 34

Ile Ile Pro Ile Phe Asn Thr Ala
1 5

<210> 35

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 5A2 CDRH3 amino acid sequence

<400> 35

Ala Arg Asp Phe Leu Ser Gly Pro Met Glu Met Pro Gly Gly Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Leu Asp Val
20

<210> 36

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 5A2 CDRL1 amino acid sequence

<400> 36

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 37

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 5A2 CDRL2 amino acid sequence

<400> 37

Trp Ala Ser
1

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 5A2 CDRL3 amino acid sequence

<400> 38

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Ile Thr
1 5

<210> 39

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 5A2 heavy chain amino acid sequence

<400> 39

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30Val Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asn Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Val
50 55 60Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95Ala Arg Asp Phe Leu Ser Gly Pro Met Glu Met Pro Gly Gly Tyr Tyr
100 105 110Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 40

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 5A2 light chain amino acid sequence

<400> 40

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95Tyr Tyr Ser Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

PCT IB2008 001111 Sequence Listing

<210> 41
<211> 381
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 5A2 heavy chain nucleotide sequence

<400> 41
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaggaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgtta tccactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatggggggg atcatcccta tctttaatac agcaaaactac 180
gcacagaagg tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaagac actgccatat attactgtgc gagggatttt 300
ctatcagggtc ctatgggaaat gcccggcggc tactacggtt tggacgtctg gggccaaggg 360
accacggtca ccgtctcctc a 381

<210> 42
<211> 339
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 5A2 light chain nucleotide sequence

<400> 42
gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagttcca acaataagaa ctacttagct 120
tggtagcagc agaaaccagg acagcctcct aagctgtca ttactgggc atctaccggg 180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtact 300
cctatcacct tcggccaagg gacacgactg gagattaaa 339

<210> 43
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 5A2 CDRH1 nucleotide sequence

<400> 43
ggaggcacct tcagcagcta tggt 24

<210> 44
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 5A2 CDRH2 nucleotide sequence

<400> 44
atcatcccta tctttaatac agca 24

<210> 45
<211> 60
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 5A2 CDRH3 nucleotide sequence

PCT IB2008 001111 Sequence Listing

<400> 45
gcgaggggatt ttctatcagg tcctatggaa atgcccggcg gctactacgg tttggacgtc 60

<210> 46
<211> 36
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 5A2 CDRL1 nucleotide sequence

<400> 46
cagagtgttt tatacagttc caacaataag aactac 36

<210> 47
<211> 9
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 5A2 CDRL2 nucleotide sequence

<400> 47
tgggcatct 9

<210> 48
<211> 27
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> 5A2 CDRL3 nucleotide sequence

<400> 48
cagcaatatt atagtactcc tatcacc 27

<210> 49
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> variant 2F4 heavy chain amino acid sequence

<400> 49
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Val Ile Trp Asp Asp Gly Ser Lys Met Tyr His Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

PCT IB2008 001111 Sequence Listing

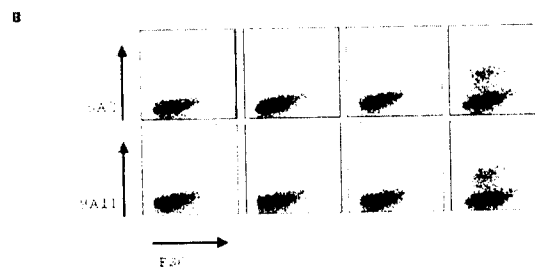
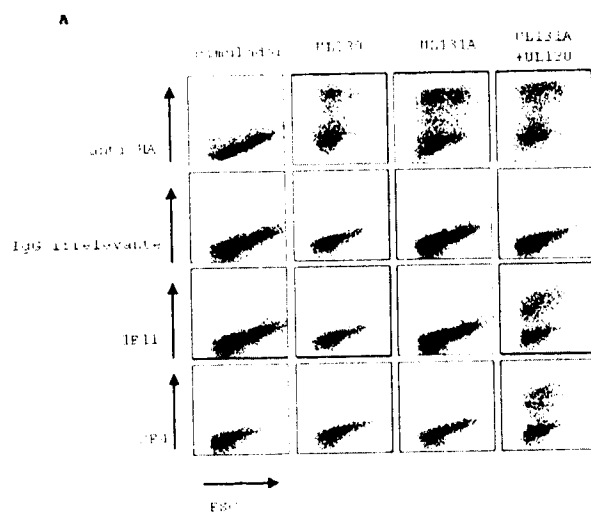
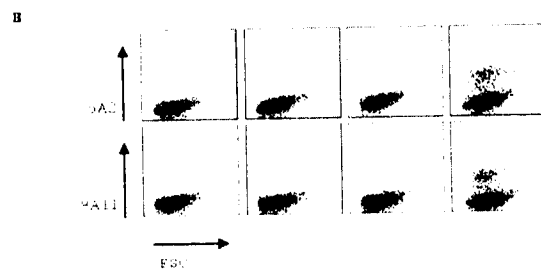
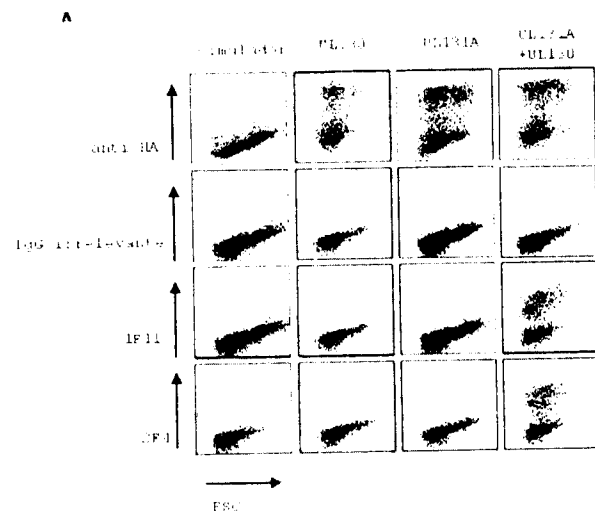
Ala Arg Asp Glu Gly Ala Ile Met Leu His Ala Met Thr Asp Tyr Gly
100 105 110

Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 50
<211> 378
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> variant 2F4 heavy chain nucleotide sequence

<400> 50
caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt cagtttcaat acatatggga tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatgggatg atggaagtaa aatgtaccat 180
gcggactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaaaaa cacactgtat 240
ctccaaatga acagtctgag agccgaggat acggctgtgt attactgtgc gagagacgag 300
ggtgcaataa tgctgcacgc catgactgac tacggtttgg acgtctgggg ccaagggacc 360
acagtcaccg tctcctca 378



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

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

(21) N° de solicitud:

(22) Fecha de solicitud: **4 DE AGOSTO DE 2.009**

(51) Clasificación Internacional :

(71) Solicitante(s) **HUMABS LLC.**

(72) Inventor(es) **Antonio LANZAVECCHIA y Annalisa MACAGNO**

(74) Agente: **HUMBERTO RUBIO CAMACHO**

(30) Prioridad
ESTADOUNIDENSE

(31) No. Prioridad
0700133.2

(32) Fecha
04/01/2007

(33) País
ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

(85) Fecha inicio fase nacional:

(87) Publicación internacional

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

Fecha: **17/07/2008**

Fecha de presentación de la solicitud: **03/01/2008**

N° publicación: **WO 2008/084410**

No. de solicitud: **PCT/IB2008/001111**

(54) Título: **ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES DEL CITOMEGALOVIRUS HUMANO Y SU USO**

100

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO TEMATICO

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

(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud: **4 DE AGOSTO DE 2009**

(51) Clasificación Internacional :

(71) Solicitante(s) **HUMABS LLC.**

(72) Inventor(es) **Antonio LANZAVECCHIA y Annalisa MACAGNO**

(74) Agente: **HUMBERTO RUBIO CAMACHO**

(30) Prioridad	(31)	No. Prioridad	32)	Fecha	(33)	País
ESTADOUNIDENSE		0700133.2		04/01/2007		ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

(85) Fecha inicio fase nacional:

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

Fecha de presentación de la solicitud: **03/01/2008**

No. de solicitud: **PCT/IB2008/001111**

(87) Publicación internacional:

Fecha: **17/07/2008**

No. de publicación: **WO 2008/084410**



(54) Título: **ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES DEL CITOMEGALOVIRUS HUMANO Y SU USO**

Resumen:

Un anticuerpo neutralizante que tiene potencia alta para neutralizar el citomegalovirus humanos.

Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo tiene una afinidad de 10^{-9} M o menos.

Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la concentración del anticuerpo requerido para el 50% de neutralización de una cepa clínica de hCMV es 0,1 µg/ml o menos.



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MÍNIMOS PARA ADMISIÓN A TRAMITE

PCT

PATENTE DE INVENCION



MODELO DE UTILIDAD []

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

COMPLETA []

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

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

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

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

COMPLETA []

INCOMPLETA []


Firma Responsable

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Fecha



No. 09-081236- -00000-0000

Fecha: 2009-08-04 15:28:37 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 101

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5,7y10'

Conmutador: 3 82 0840

Fax: 3505220

E-mail: info@sic.gov.co

www.sic.gov.co

Bogotá D.C. - Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
RUBIO CAMACHO HUMBERTO

REFERENCIA	Radicación No.	9 81236
	Solicitud internacional	PCT/IB2008/001111
	Fecha inicio fase nacional	04/08/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	9289

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

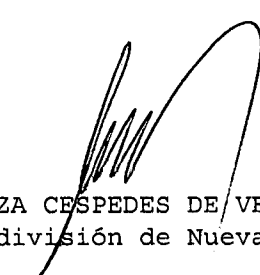
En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.

Continúa en la página siguiente...

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación No.: 9 81236



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

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 14 AGO. 2009
adpa11