SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 16-099537- -00000-0000
Fecha: 2016-04-19 16:48:56 Dep: 2020 DIR.NUEVASCF
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: 132 133

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

JV

- *Delegatura de Propiedad Industrial*

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

PCT- FASE NACIONAL

21. EXPEDIENTE No. _____

22. TITULO ***ANTICUERPOS ANTI-IL-17. UN MÉTODO PARA PRODUCIR Y UTILIZAR LOS MISMOS***

CLASIFICACION INTERNACIONAL

SOLICITANTES ***CLOSED JOINT STOCK COMPANY "BIOCAD"***

DOMICILIO ***ST.PETERSBURG, FEDERACIÓN DE RUSIA***

APODERADO ***JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS***

Bogotá, D.C.,

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
de radicación
No. 16-099537- -00000-0000
Fecha: 2016-04-19 16:48:56 Dep: 2020 DIR NUEVASCR
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: ~~132~~ 133

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

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

2 DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)

Solicitud Internacional No.	PCT/RU2014/000808	Fecha	27/10/2014
Publicación Internacional No.	WO2015/137843 A1	Fecha	17/09/2015

3 TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)

ANTICUERPOS ANTI-IL-17, UN MÉTODO PARA PRODUCIR Y UTILIZAR LOS MISMOS

4 CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)

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

APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN	TIPO
CLOSED JOINT STOCK COMPANY "BIOCAD"			

6 DATOS DEL SOLICITANTE

DIRECCIÓN	Liter A, bld. 34, Svyazi, 34	No. TELÉFONO	
CIUDAD	STRELNA, PETRODVORTSOVIY DISTRICT	CORREO ELECTRÓNICO	
DEPARTAMENTO/ESTADO	ST.PETERSBURG, 198515	NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN	RU
PAÍS DE RESIDENCIA	FEDERACIÓN DE RUSIA		

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

	APELLIDOS	NOMBRES	NACIONALIDAD	PAIS DE RESIDENCIA
1.	ULITIN,	Andrey Borisovich	RU	RU
2.	EVDOKIMOV,	Stanislav Rudolfovich	RU	RU
3.	SOLOVIEV,	Valeriy Vladimirovich	RU	RU
4.	CHERNYH,	Yulia Sergeevna	RU	RU
5.	GONCHAROVA,	Olga Vladimirovna	RU	RU

DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:

8 DATOS INVENTOR (ES)

DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
MOSKOVSKAYA OBL	PUSCHINO	Microdisctrict "AB", 28-11, 142290
MOSKOVSKAYA OBL.	PUSCHINO	Microdistrict "D", 20a-21, 142290
MOSKOVSKAYA OBL	PUSCHINO	Microdistrict "D", 24-91, 119071
PERMSKY KRAY	SOLIKAMSK	ul. Molodezhnaya, 27-16, 618553
MOSKOVSKAYA OBL	LYUBUCHANY	ul. Sportivnaya, 13-22 Chekhovskiy r-n., 142380

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

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

9 ☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO

APELLIDOS	NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
DELGADO VILLEGAS	JAIME EDUARDO	C.C . 19.270.955 T.P .43.308 C.S.J.

DIRECCIÓN	Avda. Carrera 24 No. 37 - 31 Of. 202	No. TELÉFONO	2444096
CIUDAD	BOGOTA D.C.,	CORREO ELECTRÓNICO	mde@mde.com
PAÍS	COLOMBIA	No. RADICACIÓN DE PROTOCOLO DE PODER GENERAL	

10 DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO

(33) PAÍS DE ORIGEN	CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
FEDERACIÓN DE RUSIA	RU	2014109854	14/03/2014

11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS

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

☐ SI ☒ NO

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

12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES

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

☐ SI ☒ NO

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

13	REDUCCIÓN DE TASAS

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

☐ SI ☒ NO

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

Micro, pequeñas y medianas empresas ☐

Universidades públicas o privadas ☐

Entidades sin ánimo de lucro ☐

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

14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☐ SI ☒ NO

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

15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N°	Fecha

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

JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS
APODERADO

17	ANEXOS

Documentación Técnica
Solicitud Internacional en castellano

1. ☒ Descripción — N° de folios: 107
2. ☒ Reivindicaciones — N° 43
3. ☐ Dibujos y/o figuras — N° folios: 13
4. ☒ Resumen.
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.
6. ☒ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.
7. ☐ Arte final 12 x 12.
8. ☐ Anexo formato digital.

Documentación Jurídica

9. ☒ Poderes, si fuera el caso. EXP. 15-011.531
10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.
11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.
12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.
13. **Reducción de tasas**

Micro, pequeñas o medinas empresas

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

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

Universidades públicas o privadas

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

Entidades sin ánimo de lucro

☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.
☐ Hoja de información complementaria.
☐ Otros, especificar

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

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

HOJA DE INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA PCT

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

4 (71) SOLICITANTE (S)

	APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN	TIPO
2.				

5 DATOS DEL SOLICITANTE

	PAÍS DE RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN

	TELÉFONO	FAX	E-MAIL	NACIONALIDAD
2.				
3.				
4.				
5.				

6 (72) INVENTOR (ES)

	APELLIDOS	NOMBRE	NACIONALIDAD
6.	KORZHAVIN,	Dmitriy Valerievich	RU
7.	CHERNOVSKAYA,	Tatyana Veniaminovna	RU
8.	IVANOV,	Roman Alexeevich	RU
9.	MOROZOV,	Dmitriy Valentinovich	RU

7 DATOS INVENTOR (ES)

	DIRECCIÓN	CIUDAD	DEPARTAMENTO/ESTADO	PAÍS RESIDENCIA
6	Zagrebskiy blvd, 9-162, 192284	ST.PETERSBURG		RU
7	ul. Sportivnaya, 11-24 Lyubuchany r-n., 142380	CHEKHOVSKIY	MOSKOVSKAYA OBL	RU
8	ul. Planetnaya, 29/2-176, 125167	MOSCOW		RU
9	Leninskiy pr., 35-54, 119071	MOSCOW		RU

9 (30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD

	PAÍS DE ORIGEN	CÓDIGO PAÍS	NÚMERO	FECHA (AAAA/MM/DD)
4.				

ANTICUERPOS ANTI-IL-17, UN MÉTODO PARA PRODUCIR Y UTILIZAR LOS MISMOS

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se relaciona con el campo de la medicina, en particular, con el campo de los anticuerpos monoclonales contra la IL-17 humana. Más particularmente, esta invención se relaciona con anticuerpos monoclonales - agonistas de IL-17A que se unen con alta afinidad a los epitopos de IL-17, en donde estos anticuerpos comprenden sustituciones de aminoácidos en las regiones hipervariables de las cadenas pesada y ligera. Los anticuerpos de la invención pueden ser anticuerpos quiméricos, humanizados o humanos, o fragmentos que se unen al antígeno de los mismos, y pueden utilizarse como un agente medicinal para el tratamiento de los trastornos autoinmunes o inflamatorios o los trastornos proliferativos y del desarrollo de las células. Esta invención también se relaciona con un método para preparar los anticuerpos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La función clave del sistema inmune es proteger el cuerpo de las infecciones (por ejemplo, viral o bacteriana) y los neoplasmas malignos. El sistema involucra varios tipos de células linfoides y mieloides, tales como

monocitos, macrófagos, células dendríticas, eosinófilos, linfocitos T, linfocitos B y neutrófilos. Estas células linfoides y mieloides pueden inducir las proteínas de señalización, conocidas como citocinas. La inflamación es una parte de la respuesta inmune, y causa la acumulación de células inmunes, ya sea sistémica o centrada en ciertas partes del cuerpo. Cuando responden a la infección o cualquier sustancia extraña, las células inmunes liberan citocinas que a su vez, modulan la proliferación, desarrollo, diferenciación y migración de las células inmunes. La respuesta inmune puede inducir varios procesos patológicos, por ejemplo, si desencadena la inflamación excesiva, como sucede en el caso de las enfermedades autoinmunes (referencia, Abbas et al. (eds.) (2000) Cellular and Molecular Immunology, W.B. Saunders Co., Filadelfia, Pa.; Oppenheim and Feldmann (eds.) (2001) Cytokine Reference, Academic Press, San Diego, Calif.; von Andrian and Mackay (2000) New Engl. J. Med. 343:1020-1034; Davidson and Diamond (2001) New Engl. J. Med. 345:340-350).

Actualmente, la familia de la IL-17 incluye a IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E e IL-17F. Todos los miembros de la familia de IL-17 tienen cuatro residuos de cisteína altamente conservados, que están involucrados en la formación de los enlaces de disulfuro intercadena, y dos o más residuos de cisteína que también pueden estar

involucrados. Los miembros de la familia de IL-17 no tienen nada similar a las secuencias de otras citocinas conocidas.

La interleucina-17A (IL-17A, también conocida como el antígeno 8 asociado con el linfocito T citotóxico (CTLA-8), IL-17), es una citocina homodimérica, de 20-30 kDa, producida por los linfocitos T de memoria con el siguiente reconocimiento del antígeno. El crecimiento de estos linfocitos T es fomentado por la interleucina-23 (IL-23) (McKenzie et al. (2006) Trends Immunol. 27(1):17-23; Langrish et al. (2005) J. Exp. Med. 201(2):233-40). La IL-17A actúa vía dos receptores (IL-17RA e IL-17RC), para iniciar la producción de múltiples moléculas involucradas en los procesos con los neutrófilos, procesos inflamatorios y daño del órgano. Esta citocina es sinérgica con el factor de necrosis del tumor (TNF) o la interleucina 1-beta (IL-1β) para lograr un efecto antiinflamatorio más pronunciado. En la terapia de muchas condiciones inflamatorias, inmunes y proliferativas, incluyendo la artritis reumatoide (RA), osteoartritis, osteoporosis en pacientes con RA, fibrosis inflamatoria (incluyendo escleroderma, fibrosis pulmonar y cirrosis), gingivitis, periodontitis o enfermedades periodontales, enfermedades inflamatorias del intestino (por ejemplo, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa y enfermedad inflamatoria del intestino), asma (incluyendo el asma alérgica), alergias, enfermedad pulmonar obstructiva

crónica (COPD), esclerosis múltiple, soriasis, cáncer y otros trastornos, se propuso reducir la actividad de la IL-17A por medio de anticuerpos o fragmentos de anticuerpo que se unen al antígeno, que bloquean esos receptores (por ejemplo, referirse a los documentos US 2003/0166862, WO 2005/108616, WO 2005/051422 y WO 2006/013107).

En la actualidad, se desarrollaron varios tipos de anticuerpos anti-IL-17, incluyendo AIN457 (secukinumab por Abbott Laboratories), LY2439821 (Ixekizumab por Eli Lilly), SCH900117 (Merck), RG4943 (Roche), etc.

Por ejemplo, la solicitud de Patente de los Estados Unidos US 2010/0245666, describe un anticuerpo anti-IL-17 (secukinumab, AIN457), que contiene una sustitución o supresión de aminoácidos en una de las regiones CDR de las cadenas pesada o ligera. Este anticuerpo es altamente afín a la IL-17 con una constante de disociación K_D de aproximadamente 122 μM. Esta solicitud también describe el uso de los anticuerpos para inhibir la unión de la IL-17 con un receptor apropiado, especialmente para el tratamiento de la uveítis. Actualmente, el anticuerpo se somete a ensayos clínicos para el tratamiento de la RA, espondiloartropatía anquilosante, enfermedad de Crohn, soriasis, esclerosis múltiple y neutrofilia inducida por el ozono. Se mostró que este anticuerpo es seguro y exhibe 46% de eficacia en pacientes con RA (Durez et al., Communication EULAR 2009-

RA).

El conocimiento previo también ha descrito los anticuerpos humanizados contra la IL-17, como se describe en la publicación internacional de la solicitud WO 2007/070750 (LY2439821, ixekizumab, Eli Lilly). Los anticuerpos contienen dominios variables de la cadena pesada y ligera con sustituciones de aminoácidos. Basándose en eso, el anticuerpo es altamente afín a la IL-17 humana (la KD es menor que aproximadamente 7.0-4.0 pM, y tiene un índice de koff para la IL-17 humana $<2\times10^{-5}$ segundos^{-1}. Los anticuerpos se sometieron a estudios clínicos de la seguridad, tolerabilidad y eficacia tras la administración intravenosa en sujetos con RA. (Genoevse et al., Communication EULAR 2009-RA; Genoevse et al., *Artritis & Rheumatism,* 62: 929-39, (2010).

El estado de la técnica previa tiene información sobre otros anticuerpos anti-IL-17: los anticuerpos neutralizantes antihumanos murinos eBio64CAP17 (eBioscience) y derivados de los mismos. Otros ejemplos de anticuerpos anti-IL-17 se describieron en las solicitudes de patente US2009/0175881A1 y US2008/0269467A1, y en las publicaciones internacionales WO2008/001063A1 y WO2007/117749A1.

Así, tomando en cuenta su expansión localizada en el área de inflamación, la IL-17 es un nuevo objetivo en la terapia de los trastornos inflamatorios e inmunes, con el

perfil de seguridad potencialmente más alto que los fármacos dirigidos a las citocinas proinflamatorias de circulación sistémica tales como el TNF (factor de necrosis del tumor). En vista de lo anterior, puede concluirse que hay una necesidad de anticuerpos que tengan actividad antagonista o que neutralicen la actividad de la IL-17A para tratar las enfermedades y condiciones, en donde la actividad biológica de la IL-17A causa o fomenta un resultado patológico adverso, o enfermedades y condiciones, en donde la reducción de la actividad biológica de la IL-17 fomenta el resultado terapéutico deseable, incluyendo trastornos inflamatorios, trastornos proliferativos y del desarrollo de las células, patologías autoinmunes tales como artritis reumatoide (RA) y enfermedad inflamatoria del intestino (IBD).

Las limitaciones más grandes de utilizar anticuerpos como agentes medicinales son debidas a su inmunogenicidad y afinidad. Puesto que la mayoría de los anticuerpos monoclonales se obtiene basándose en los murinos, el uso regular de tales anticuerpos en humanos causa el desarrollo de una respuesta inmune a la terapia con anticuerpos (por ejemplo, reacciones alérgicas). Estos tipos de respuesta inmune finalmente resultan en la falta de eficacia cuando menos, y en reacciones anafilácticas potenciales en el peor caso.

Así, la presente invención sugiere anticuerpos

anti-IL-17 con sustituciones de aminoácidos, en donde los anticuerpos reclamados poseen alta afinidad, solubilidad mejorada y una IC_{50} incrementada.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Foretograma de la solución de la proteína IL-17A.

Figura 2. Foretograma de la solución de la proteína IL-17A-Fc.

Figura 3. SDS-PAGE al 12% bajo condiciones reductoras (A) y no reductoras (B).

Figura 4. Diagrama de flujo para la síntesis de la biblioteca de Fab del anticuerpo combinatorio de llama.

Figura 5. Fagémido para clonar las bibliotecas de Fab de representación del fago.

Figura 6. Diagrama de flujo para la síntesis de las bibliotecas de Fab del anticuerpo combinatorio híbrido.

Figura 7. Diagrama de flujo para la síntesis de las bibliotecas de Fab del anticuerpo combinatorio híbrido.

Figura 8. Combinación de las agrupaciones del dominio variable.

Figura 9. Selección con ELISA del Fab específico contra la IL-17 humana.

Figura 10. Selección con ELISA competitivo de los candidatos de Fab que bloquean la interacción de IL-17A/IL-

17R.

Figura 11. Resultados de la selección de koff de los candidatos de Fab anti-IL-17A humana.

Figura 12. Electroforetograma de la solución de BCD085.

Figura 13. Perfil de la HPLC por exclusión de tamaño de BCD085 purificado.

Figura 14. Actividad inhibidora de IL-6 de BCD085 en comparación con AIN 457.

Figura 15. Curva de interacción para BCD085 con la IL-17 humana.

Figura 16. Curva de interacción para BCD085 con IL-17 de mono (*Macaca mulatta*).

Figura 17. Cromatograma obtenido con el anticuerpo BCD085 después del estrés térmico.

Figura 18. Perfil farmacocinético de un anticuerpo anti-IL-17A (BCD085), tras una sola administración subcutánea al macaco rhesus (*Macaca mulatta*) en una dosis de 40 mg/kg.

Figura 19. Estructura de un anticuerpo del tipo IgG.

ESPECIFICACIÓN DE LA INVENCIÓN

Definiciones

"Interleucina 17", también referida como "IL-17" o "IL-17A", es una glucoproteína homodimérica de 20-30 kD. El

gen de la IL-17 humana codifica la proteína que consiste de 155 aminoácidos, y tiene una secuencia de la señal de 19 aminoácidos y un segmento maduro de 136 aminoácidos. Un anticuerpo de tamaño completo como aparece en la naturaleza, se representa por la molécula de inmunoglobulina (anticuerpo), que consiste de cuatro cadenas peptídicas: dos cadenas pesadas (H) (aproximadamente 50-70 kD de longitud completa) y dos cadenas ligeras (L) (aproximadamente 25 kD de longitud completa), enlazadas con enlaces de disulfuro. El dominio aminoterminal de cada cadena, incluye una región variable de aproximadamente 100-110 o más aminoácidos, que es responsable principalmente para el reconocimiento del antígeno. El dominio carboxiloterminal de cada cadena, determina la región constante responsable principalmente para la función efectora.

El anticuerpo comprende las cadenas ligera y pesada. Los dominios variables de las cadenas pesada y ligera, forman un centro (sitio) de unión al antígeno. La estructura del anticuerpos se presenta en la Figura 19.

Las cadenas ligeras se clasifican como kappa y lambda, y tienen regiones constantes específicas. Cada cadena ligera está caracterizada porque comprende una región de la cadena N terminal variable (referida en el presente documento como LCVR o VL), y una región de la cadena ligera constante, que consiste de un solo dominio (CL). Las

cadenas pesadas se clasifican como γ, δ, α, μ y ε, y definen clases de inmunoglobulinas: IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente; algunas de ellas pueden dividirse además, en subclases (isotipos), tales como IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2. Cada tipo de cadena pesada está caracterizado por una región constante específica Fc. Cada cadena pesada comprende una región N terminal variable (referida en el presente documento como HCVR o VH) y una región constante CH. La región de cadena pesada constante consiste de tres dominio (CH1, CH2 y CH3) para la IgG, IgD e IgA, y de 4 dominios (CH1, CH2, CH3 y CH4) para la IgM y la IgE. La HCVR y la LCVR también pueden dividirse en las llamadas regiones hipervariables Rf (regiones que determinan la complementariedad, CDR), intercaladas con las regiones del marco (FR) más conservadoras. Cada HCVR y LCVR comprende tres CDR y FR localizadas en el siguiente orden desde el término N al término C: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. En la presente solicitud, 3 CDR de la cadena pesada se refieren como CDRH1, CDRH2 y CDRH3, mientras que 3 CDR de la cadena ligera se refieren como CDRL1, CDRL2 y CDRL3. Las CDR contienen la mayoría de los residuos de aminoácidos que interactúan de manera específica con el antígeno. De acuerdo con la presente invención, los residuos de la CDR en la HCVR y la LCVR se numeran y colocan en cumplimiento con el Esquema de Numeración de Kabat, a menos que se indique

de otra manera. La presente solicitud incluye los códigos de letras comunes para los aminoácidos, a menos que se indique de otra manera.

Los términos "anticuerpo anti-IL-17A", "anticuerpo contra la IL-17", "anticuerpo que se une de manera específica a la interleucina IL-17" y "anticuerpo contra la IL-17A", son intercambiables en el presente documento, y se relacionan con un anticuerpo que se une de manera específica a la IL-17A.

Como se utiliza en el presente documento, el término "anticuerpo" con relación al anticuerpo monoclonal anti-IL-17A de la presente invención (o en una forma simplificada: "anticuerpo monoclonal de acuerdo con la invención"), se relaciona con un anticuerpo monoclonal. "Anticuerpo monoclonal", como se utiliza en el presente documento, se relaciona con un anticuerpo obtenido de roedores, primates o la familia *Camelidae*, de manera preferida con un anticuerpo murino, de mono, camello o llama, anticuerpo quimérico, anticuerpo humanizado o anticuerpo completamente humano, a menos que se indique de otra manera en la presente solicitud. Los anticuerpos monoclonales de acuerdo con la invención, pueden producirse utilizando tecnología del hibridoma conocida de la técnica previa, tecnología recombinante, tecnología de representación del fago, tecnología sintética o las

combinaciones de éstas y otras tecnologías bien conocidas de la técnica previa. El término "anticuerpo monoclonal", como se utiliza en el presente documento, no está limitado a los anticuerpos obtenidos por medio de la tecnología del hibridoma. "Anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo obtenido de una sola copia o clona, incluyendo, por ejemplo, cualquier clona eucariótica, procariótica o de fago, más que a un método de producción del mismo. El "anticuerpo monoclonal" puede ser un anticuerpo intacto (con una región Fc completa o de longitud completa), un anticuerpo realmente intacto, una parte o fragmento del anticuerpo que comprende una región que se une al antígeno, por ejemplo, el fragmento Fab, el fragmento Fab' o el fragmento F(ab')2. El fragmento "Fab" comprende un dominio variable de la cadena ligera y un dominio constante de la cadena ligera, así como un dominio variable de la cadena pesada y un primer dominio constante de la cadena pesada (CH1). El fragmento del anticuerpo "F(ab')2" contiene un par de fragmentos Fab que están unidos principalmente de manera covalente por aminoácidos articulados en las regiones C terminales. Fv es un fragmento del anticuerpo variable; scFv (Fv de una sola cadena) es un fragmento variable de un anticuerpo en el cual los fragmentos de la cadena ligera y pesada están enlazados vía un péptido enlazante corto; el fragmento (scFv)2 consiste de dos moléculas de scFv unidas

con un enlace de disulfuro; el fragmento variable dsFv estabilizado con un enlace de disulfuro intramolecular adicional. Otros enlaces químicos entre los fragmentos de anticuerpo también son bien conocidos del estado de la técnica.

Los términos "anticuerpo" e "inmunoglobulina" se utilizan de manera indistinta en el presente documento.

Las regiones variables de cada par de cadena ligera/pesada forman un sitio que se une al antígeno de un anticuerpo. De acuerdo con la presente solicitud, la "región que se une al antígeno" o "sitio que se une al antígeno", o "dominio que se une al antígeno", o "centro que se une al antígeno" son intercambiables, como se utiliza en el presente documento, con referencia a una región del anticuerpo que comprende residuos de aminoácidos que interactúan con un antígeno y que proporcionan al anticuerpo su especificidad y afinidad. Este fragmento de anticuerpo incluye los residuos de aminoácidos del marco necesarios para mantener la conformación apropiada de los residuos que se unen al antígeno.

De manera preferida, la CDR de una región que se une al antígeno o el sitio que se une al antígeno completo, de acuerdo con la invención, se origina de una biblioteca de un donador humano o es básicamente de origen humano, y tiene residuos de aminoácidos específicos cambiados, por ejemplo,

sustituidos con varios residuos de aminoácidos, con el fin de mejorar las propiedades particulares de un anticuerpo (por ejemplo, su K_D, k_{off} e IC_{50}). De manera preferida, las regiones del marco del anticuerpo de acuerdo con la invención son de origen humano o sustancialmente de origen humano (al menos por 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 ó 99% de origen humano). Las regiones del marco preferidas de un anticuerpo de acuerdo con la invención, tienen secuencias de aminoácidos que corresponden a las regiones del marco del anticuerpo humano:

Dominio variable de la cadena pesada

FR1 QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAADG

FR2 WVRQAPGKGLEWVS

FR3 RFTISRDDAKNTLYLQMSSLKTEDTAVYYC

FR4 WGQGTLVTVSS

Dominio variable de la cadena ligera

FR1 QSVLTQPPSVSVAPGKTVTISC

FR2 WYQHLPGTAPKLLIY

FR3 GVPDRFSGSQSGNTASLTISGLQAEDEADYYC

FR4 FGGGTKLTVLGQ.

En otras modalidades, un sitio que se une al antígeno del anticuerpo anti-IL-17 de la invención, puede originarse de otras especies no humanas, incluyendo de manera no exclusiva, conejo, rata o hámster. De manera alterna, un sitio que se une al antígeno puede originarse de

especies humanas.

Además, un "anticuerpo monoclonal" de acuerdo con la presente solicitud, puede representarse por un fragmento Fv de una sola cadena, que puede obtenerse uniendo el ADN que codifica al LCVR y HCVR con una secuencia enlazante (referirse a Pluckthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, p. 269-315, 1994). Se entiende que de manera independiente de si se especifican los fragmentos o partes, el término "anticuerpo" como se utiliza en la presente solicitud, incluye tales fragmentos o partes, así como formas de una sola cadena. Hasta que la proteína mantenga su capacidad de unirse de manera específica o preferida al objetivo (epitopo o antígeno, por ejemplo), está cubierta por el término "anticuerpo". Los anticuerpos pueden ser glucosilados o no, y están dentro del marco de la invención.

La población de "anticuerpos monoclonales", como se utiliza en el presente documento, se refiere a una población de anticuerpos homogéneos o esencialmente homogéneos (es decir, al menos aproximadamente 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95 ó 96%, pero de manera más preferida no menos que aproximadamente 97 ó 98%, o de manera preferida además, al menos 99% de los anticuerpos en la población competirán para el mismo antígeno/epitopo en el ELISA, o de manera

preferida además, los anticuerpos son idénticos con respecto a sus secuencias de aminoácidos). Los anticuerpos pueden ser glucosilados o no, pero aún están dentro del alcance de la invención. Los anticuerpos monoclonales son homogéneos si tienen secuencias de aminoácidos idénticas, aunque pueden diferir en la modificación postraducción (por ejemplo, patrones de glucosilación).

La "variante" del anticuerpo, como se utiliza en el presente documento, se refiere a una secuencia de aminoácidos de la molécula, la cual difiere de la secuencia original mediante la adición, supresión y/o sustitución de uno o más residuos de aminoácidos en la secuencia del anticuerpo original. En la modalidad preferida, un anticuerpo contiene al menos uno (por ejemplo, de uno a aproximadamente diez, de manera preferida 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8) inserciones, supresiones y/o sustituciones del aminoácido en las regiones CDR del anticuerpo original. Esta solicitud define la identidad u homología con respecto a la secuencia de una variante del anticuerpo como el porcentaje de residuos de aminoácidos en una secuencia variante del anticuerpo que son idénticos a los residuos en el anticuerpo original después de alinear las secuencias, y si se necesita, cortar con el fin de lograr el máximo porcentaje de secuencia idéntica. Una variante del anticuerpo mantiene su capacidad para unirse al mismo antígeno o, de manera

preferida, epitopo, que aquélla con la que se une el anticuerpo original, o de manera preferida, exhibe al menos una propiedad o actividad biológica que excede aquélla del anticuerpo original. Por ejemplo, el anticuerpo de manera preferida tiene una afinidad más fuerte, una vida media más larga, una IC_{50} más baja o una capacidad incrementada para inhibir la actividad del antígeno, en comparación con el anticuerpo original. Una variante del anticuerpo de particular interés en la presente solicitud, es un anticuerpo que muestra al menos una actividad incrementada 2 veces, de manera preferida al menos 5 veces, 10 veces o 20 veces, cuando se compara con el anticuerpo original.

Anticuerpo "original", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un anticuerpo codificado con una secuencia de aminoácidos que se utiliza para producir una variante. El anticuerpo original puede tener una secuencia del marco que se origine de *Lama glama*, y de manera preferida, la secuencia del marco es de origen completa o sustancialmente humano. El anticuerpo original puede ser de llama, quimérico, humanizado o humano.

Los anticuerpos de la invención pueden prepararse utilizando varias técnicas de ingeniería, incluyendo métodos recombinantes tales como el mezclado del ADN de varios orígenes.

Como se utiliza en el presente documento, el

término "se une de manera específica" se refiere a una situación tal, en la que una parte involucrada en el proceso de unión específico no se une de manera significativa a las moléculas distintas a su compañero (compañeros de unión específico). Este término también se aplica si, por ejemplo, un sitio de unión al antígeno del anticuerpo de acuerdo con la invención, es específico para un epitopo particular, que se lleva a cabo por varios antígenos; en este caso, el anticuerpo específico con un sitio que se une al antígeno será capaz de unirse de manera específica con varios antígenos que portan el epitopo. Así, el anticuerpo monoclonal de acuerdo con la invención, se une de manera específica a la IL-17 humana (IL-17A), mientras que no se une de manera específica a la IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E e IL-17F humanas.

Como se utiliza en el presente documento, el término "epitopo" se refiere a una parte de la molécula que puede reconocerse por, y unirse a un anticuerpo vía uno o varios sitios de unión al antígeno de un anticuerpo. Los epitopos comprenden con frecuencia los grupos de moléculas con superficie activa químicamente, tales como aminoácidos o cadenas laterales del azúcar, y tienen características estructurales 3-D específicas y características de carga específicas. "Epitopo de inhibición" y/o "epitopo neutralizante" significa un epitopo que, como en el contexto

de una molécula del antígeno intacta y que se une a un anticuerpo específico para el epitopo, causa la pérdida o reducción de la actividad *in vivo* o *in vitro* de la molécula u organismo que contiene la molécula.

Como se utiliza en el presente documento, el término "epitopo" también se refiere a un fragmento polipeptídico, que tiene una actividad antigénica y/o inmunogénica en animales, de manera preferida en mamíferos tales como ratones y humanos. El término "epitopo antigénico", como se utiliza en el presente documento, es un fragmento polipeptídico que puede unirse de manera específica al anticuerpo, y puede detectarse mediante cualquier técnica bien conocida de la técnica previa (por ejemplo, por medio del inmunoensayo estándar). Los epitopos del antígeno no son necesariamente inmunogénicos, pero pueden tener inmunogenicidad. "Epitopo inmunogénico", como se utiliza en el presente documento, se define como un fragmento polipeptídico que provoca una respuesta del anticuerpo en los animales, como se determina mediante cualquier método de la técnica previa. El "epitopo no lineal" o "epitopo conformacional", contiene polipéptidos (aminoácidos) no adyacentes, dentro de la proteína del antígeno que se unen con el anticuerpo específico del epitopo.

Los términos "propiedad biológica",

"características biológicas", "actividad" y "actividad biológica", que se refieren a un anticuerpo de acuerdo con la invención, son intercambiables, como se utilizan en el presente documento, e incluyen, de manera no exclusiva: afinidad y especificidad por el epitopo/antígeno; capacidad para neutralizar o ser un antagonista para la IL-17 *in vivo* o *in vitro*; IC_{50}; estabilidad del anticuerpo e inmunogenicidad *in vivo* del anticuerpo. Otras propiedades biológicas o características del anticuerpo identificadas de la técnica previa incluyen, por ejemplo, la reactividad cruzada (es decir, la reacción con homólogos no humanos del péptido objetivo o con otras proteínas u objetivos), y la capacidad para retener altos niveles de expresión de la proteína en las células de mamífero. Las propiedades o características mencionadas anteriormente pueden observarse, medirse o evaluarse utilizando los procedimientos reconocidos en la técnica previa, incluyendo de manera no exclusiva, ELISA, ELISA competitivo, resonancia plasmónica de superficie BIACORE o KINEXA, ensayo de neutralización *in vitro* o *in vivo* sin limitación, unión al receptor, producción y/o liberación de citocinas o factor de crecimiento, transducción de la señal y estudio histoquímico inmune de las secciones de tejido obtenidos de varias fuentes, incluyendo humanos, primates o cualquier otra fuente.

Como se utilizan en el presente documento, los términos "inhibe" o "neutraliza" con respecto a la actividad del anticuerpo de acuerdo con la invención, significará la capacidad de resistir, bloquear, evitar, restringir, ralentizar, interrumpir, destruir, detener, reducir o revertir de manera significativa, por ejemplo, el desarrollo o severidad de la inhibición objeto, incluyendo de manera no exclusiva, la actividad biológica (tal como la actividad de la IL-I7) o propiedad, enfermedad o condición. La unión del anticuerpo de acuerdo con la invención con la IL-17, causa la inhibición o neutralización de la actividad de la IL-17, de manera preferida de al menos 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95% o mayor.

El término "paciente", como se utiliza en el presente documento, se refiere a mamíferos incluyendo de manera no exclusiva, ratones, monos, humanos, mamíferos de ganado, mamíferos para deportes y mamíferos de mascotas; de manera preferida, el término se aplica a los humanos. En una cierta modalidad el paciente, de manera preferida el mamífero, de manera preferida humano, está caracterizado además por una enfermedad, trastorno o condición mediada por la IL-17A, que puede mejorarse mediante la reducción de la actividad biológica de la IL-17.

El término "vector" se refiere a moléculas de ácidos nucleicos que pueden transportar otro ácido nucleico

al cual están unidas, incluyendo de manera no exclusiva, plásmidos y vectores virales. Ciertos vectores pueden replicarse de manera autónoma en las células hospederas a las cuales se introducen, mientras que otros vectores pueden integrarse en el genoma de las células hospederas y replicarse junto con el genoma del hospedero. Además, algunos vectores pueden mediar la expresión de los genes a los cuales están unidos funcionalmente. En esta solicitud, tales vectores son llamados "vectores de expresión recombinantes" (o "vectores de expresión"); los vectores ejemplares son bien conocidos de la técnica previa.

Como se utiliza en el presente documento, los términos "célula", "célula hospedera", "línea celular", "cultivo celular" y "productor de la línea celular", son intercambiables y se refieren a una célula individual o un cultivo celular que es un receptor de cualquier polinucleótido separado de acuerdo con la invención o cualquier vector recombinante (vectores recombinantes), que contenga la secuencia que codifica a HCVR, LCVR o un anticuerpo monoclonal de acuerdo con la invención. Las células hospederas involucran generaciones obtenidas de una célula hospedera individual; las generaciones pueden no necesariamente ser completamente idénticas (con respecto a la morfología o el complemento del ADN completo) para originar la célula hospedera debido a las mutaciones y/o

variaciones naturales, accidentales o pretendidas. Una célula hospedera incluye células que se transformaron, transdujeron o infectaron con un vector recombinante, o un anticuerpo monoclonal que expresa un polinucleótido de acuerdo con la invención o su cadena pesada o ligera. La célula hospedera que contiene un vector recombinante de acuerdo con la invención (ya sea incorporado en los cromosomas del hospedero o no), también puede llamarse una "célula hospedera recombinante". Las células hospederas preferibles a ser utilizadas en la invención son células CHO (por ejemplo, ATCC CRL-9096), células NS0, células SP2/0, células COS (ATCC, por ejemplo, CRL-1650, CRL-1651) y HeLa (ATCC CCL-2). Las células hospederas adicionales a ser utilizadas en la invención, incluyen células de plantas, células de levadura, otras células de mamífero y células procarióticas.

El término "enfermedad o trastorno mediado por la IL-17A", incluye enfermedades o trastornos que están asociados con niveles anormales en el cuerpo/tejido de la IL-17. Tal enfermedad o trastorno puede ser infección/inflamación de una naturaleza autoinmune, o puede seleccionarse de artritis reumatoide, osteoartritis, artritis crónica juvenil, artritis séptica, artritis de Lyme, artritis soriática, artritis reactiva, espondiloartropatía, lupus sistémico eritematoso, enfermedad

de Crohn, colitis ulcerativa, enfermedad inflamatoria del intestino, diabetes mellitus dependiente de la insulina, tiroadenitis, asma, trastornos alérgicos, soriasis, dermatitis, esclerosis sistémica, enfermedad de injerto versus hospedero, rechazo del injerto, enfermedad inmune aguda o crónica asociada con injerto de órganos, sarcoidosis, aterosclerosis, coagulación intravascular diseminada, enfermedad de Kawasaki, enfermedad de Graves, síndrome nefrótico, síndrome de fatiga crónica, enfermedad de Wegener, púrpura de Henoch-Schonlein, poliangiitis microscópica con implicación renal, hepatitis activa crónica, uveítis, choque séptico, síndrome de choque tóxico, síndrome de sepsis, caquexia, infecciones, invasiones, síndrome de deficiencia inmune adquirida, mielitis transversa aguda, corea de Huntington, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, accidente cerebrovascular, cirrosis biliar primaria, anemia hemolítica, malignidades, insuficiencia cardiaca, infarto del miocardio, enfermedad de Addison, síndrome autoinmune poliglandular tipo I y tipo II, síndrome de Schmidt, síndrome de dificultad respiratoria aguda, alopecia, alopecia areata, artropatía seronegativa, artropatía, síndrome de Reiter, artropatía soriática, artropatía asociada con colitis ulcerativa, sinovitis enteropática, artropatía asociada con *Chlamydia*, *Yersinia* y *Salmonella*,

espondiloartropatía, enfermedad de ateromatosis/esclerosis coronaria, alergia atópica, enfermedad bullosa autoinmune, pénfigo, pénfigo foliáceo, penfigoide, enfermedades por iga lineal, anemia hemolítica autoinmune, anemia hemolítica positiva de Coombs, anemia perniciosa adquirida, anemia perniciosa juvenil, Encefalomielitis miálgica/síndrome de fatiga crónica, inflamación hepática activa crónica, arteritis craneal gigante, hepatitis esclerosante primaria, hepatitis autoinmune criptogénica, síndrome de deficiencia inmune adquirida (SIDA), enfermedades asociada con el SIDA, hepatitis B, hepatitis C, inmunodeficiencia variable común (hipogammaglobulinemia variable común), cardiomiopatía dilatada, esterilidad femenina, insuficiencia ovárica, Falla ovárica prematura, fibrosis pulmonar, alveolitis fibrosante criptogénica, patologías intersticiales del pulmón postinflamatorias, neumonitis intersticial, enfermedad del tejido conectivo asociada con enfermedad intersticial del pulmón, enfermedad del tejido conectivo mezclada asociada con enfermedad intersticial del pulmón, escleroderma sistémica asociada con enfermedad intersticial del pulmón, artritis reumatoide asociada con enfermedad intersticial del pulmón, lupus sistémico eritematoso asociado con enfermedad del pulmón, dermatomiositis/polimiositis asociada con enfermedad del pulmón, enfermedad de Sjogren asociada con enfermedad del pulmón, espondilitis anquilosante asociada

con enfermedad del pulmón, vasculitis pulmonar difusa, hemosiderosis asociada con enfermedad del pulmón, enfermedad intersticial del pulmón inducida por fármacos, fibrosis, fibrosis inducida por radiación, bronquiolitis obliterante, neumonía eosinofílica crónica, enfermedad del pulmón con infiltración de linfocitos, patologías intersticiales del pulmón postinfecciosas, artritis gotosa, hepatitis autoinmune, hepatitis autoinmune del tipo I (hepatitis autoinmune clásica o lupoide), hepatitis autoinmune del tipo II (asociada con el anticuerpo anti-LKM), hipoglucemia autoinmune, resistencia a la insulina del tipo B con acantoqueratodermia, hipoparatiroidismo, enfermedad inmune aguda asociada con el injerto, enfermedad inmune crónica asociada con el injerto, osteoartrosis, colangitis esclerosante primaria, soriasis del tipo I, soriasis del tipo II, leucopenia idiopática, neutropenia autoinmune, enfermedades de NOS-riñón, glomerulonefritis, poliangitis renal microscópica, enfermedad de Lyme, lupus eritematoso discoide, esterilidad masculina idiopática del NOS, inmunidad antiesperma, esclerosis múltiple (todos los tipos), oftalmia simpática, hipertensión pulmonar secundaria a la enfermedad del tejido conectivo, síndrome de Goodpasture, manifestaciones pulmonares de la poliarteritis nodosa, fiebre reumática aguda, espondilitis reumatoide, enfermedad de Still, escleroderma sistémica, síndrome de

Sjogren, enfermedad de Takayasu/artritis, trombocitopenia autoinmune, trombocitopenia idiopática, trastornos tiroideos autoinmunes, hipertiroidismo, hipotiroidismo autoinmune (enfermedad de Hashimoto), hipotiroidismo autoinmune atrófico, mixedema primario, uveítis pacogénica, vasculitis primaria, vitíligo, enfermedad hepática aguda, enfermedad hepática crónica, cirrosis alcohólica, daño hepático inducido por el alcohol, colestasis, enfermedad hepática idiosincrática, hepatitis inducida por fármacos, esteatohepatitis no alcohólica, alergias y asma, infección por estreptococos del grupo B (GBS), trastornos mentales (incluyendo depresiones y esquizofrenia), enfermedad mediada por Th1 y Th2, dolor agudo y crónico (varias formas), malignidades tales como cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de estómago, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal, cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer de próstata y malignidades hematopoyéticas (leucemia y linfomas), abetalipoproteinemia, acrocianosis, infecciones e infestaciones agudas y crónicas, leucemia aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, infección bacteriana aguda o crónica, pancreatitis aguda, insuficiencia renal aguda, adenocarcinoma, taquicardias auriculares ectópicas, complejo SIDA-demencia, hepatitis inducida por el alcohol, conjuntivitis alérgica, dermatitis alérgica por contacto, rinitis alérgica, rechazo del

aloinjerto, deficiencia de la antitripsina alfa-I, esclerosis amiotrófica lateral, anemia, angina, degeneración de las células de asta anteriores, terapia anti-CD3, síndrome antifosfolípido, reacciones de hipersensibilidad contra los receptores, aneurismas aórticos y periféricos, disección aórtica, hipertensión arterial, esclerosis coronaria, fístula arteriovenosa, ataxia, fibrilación auricular (constante o paroximal), aleteo auricular, bloqueo atrioventricular, linfoma de los linfocitos B, rechazo del injerto óseo, rechazo del transplante de médula ósea (BMT), bloqueo de la rama izquierda, linfoma de Burkitt, quemaduras, arritmia cardiaca, síndrome del miocardio aturdido, tumor cardiaco, cardiomiopatía, respuesta inflamatoria al bypass, rechazo del injerto de cartílago, degeneración de la corteza cerebral, trastorno cerebelar, taquicardia auricular caótica o multifocal, trastornos inducidos por la quimioterapia, leucemia mielocítica crónica (CML), adicción crónica al alcohol, patologías inflamatorias crónicas, leucemia linfática crónica (CLL), enfermedad pulmonar obstructiva crónica, intoxicación crónica por salicilato, carcinoma rectocólico, insuficiencia cardiaca congestiva, conjuntivitis, dermatitis por contacto, cor pulmonale, enfermedad de la arteria coronaria, Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, sepsis negativa al cultivo, fibrosis quística, trastornos inducidos por la terapia con citocina,

encefalopatía de boxer, enfermedad desmielinizante, fiebre hemorrágica por dengue, dermatitis, condiciones dermatológicas, diabetes, diabetes mellitus, enfermedad vascular aterosclerótica relacionada con la diabetes, enfermedad difusa del cuerpo de Lewy, cardiomiopatía dilatada congestiva, enfermedad de los ganglios basales, síndrome de Down en la edad media, trastornos motores inducidos por los bloqueadores de la dopamina del CNS, sensibilidad a los fármacos, eczema, encefalomielitis, endocarditis, endocrinopatía, epiglotiditis, infección viral por Epstein-Barr, eritralgia, síntomas extrapiramidales y cerebelares, linfohistiocitosis hemofagocítica familiar, rechazo del injerto del timo fetal, ataxia de Friedreich, enfermedad de la arteria periférica, sepsis micótica, flemón gaseoso, úlcera gástrica, glomerulonefritis, cualquier rechazo del injerto de órgano o tejido, sepsis gram negativa, sepsis gram positiva, granulomas debidos a organismos intracelulares, leucemia de las células pilosas, enfermedad de Hallervorden-Spatz, tiroiditis de Hashimoto, fiebre del heno, rechazo del transplante cardiaco, hemocromatosis, hemodiálisis, síndrome urémico hemolítico / púrpura trombocitopénica trombótica, sangrado, hepatitis (A), arritmia de las ramas, infecciones por VIH/neuropatías por VIH, enfermedad de Hodgkin, trastornos motores hiperquinéticos, reacciones de hipersensibilidad, neumonitis

asociada con la hipersensibilidad, hipertensión, trastornos motores hipoquinéticos, examen del eje hipotálamo-apófisis-adrenal, enfermedad de Addison idiopática, fibrosis pulmonar idiopática, citotoxicidad mediada por el anticuerpo, astenia, atrofia muscular infantil, inflamación de la aorta, virus de la influenza A, exposición a radiación ionizante, iridociclitis/uveítis/neuritis óptica, trastornos inducidos por isquemia/reperfusión, accidente cerebrovascular isquémico, artritis reumatoide juvenil, atrofia muscular espinal juvenil, sarcoma de Kaposi, rechazo del transplante renal, legionelosis, leishmaniasis, lepra, daño corticoespinal, lipoedema, rechazo del transplante de hígado, linfedema, paludismo, linfoma maligno, histiocitosis maligna, melanoma maligno, meningitis, meningococcemia, enfermedades metabólicas/idiopáticas, migraña, trastornos mitocondriales de sistemas múltiples, enfermedad mezclada del tejido conectivo, gammapatía monoclonal, mieloma múltiple, degeneración de sistemas múltiples (Mencel Dejerine-Thomas Shi-Drager y Machado-Joseph), miastenia grave, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium tuberculosis* intracelular, síndrome mielodisplásico, infarto del miocardio, enfermedad isquémica del miocardio, cáncer nasofaríngeo, enfermedad crónica neonatal del pulmón, nefritis, trastornos nefróticos, neurodegenerativos, atrofia muscular neurogénica I, fiebre neutropénica, linfomas no de

Hodgkin, oclusión de la rama aórtica abdominal, enfermedad oclusiva arterial, tratamiento con OKT3®, orquitis/epididimitis, orquitis/operaciones de inversión de la vasectomía, organomegalía, osteoporosis, rechazo del injerto pancreático, carcinoma pancreático, enfermedad paraneoplásica /hipercalcemia relacionada con el tumor, rechazo del injerto paratiroideo, enfermedad inflamatoria pélvica, rinitis perenne, enfermedad pericárdica, enfermedad de aterosclerosis periférica (aterosclerótica), enfermedad vascular periférica, peritonitis, anemia perniciosa, Neumonía por *pneumocystis carinii*, síndrome de POEMS (polineuropatía, órganomegalia, endocrinopatía, trastorno monoclonal proliferativo del plasma y cambios de la piel), síndrome postperfusión, síndrome de cabezal de bomba, síndrome postinfarto postcardiotomía, preeclampsia, parálisis supranuclear progresiva, hipertensión pulmonar primaria, terapia con radiación, fenómeno y enfermedad de Raynaud, enfermedad de Raynoud, enfermedad de Refsum, taquicardia QRS estrecha regular, hipertensión vascular renal, lesión por reperfusión, cardiomiopatía restrictiva, sarcoma, enfermedad de escleroderma, corea senil, Demencia con cuerpos de Lewy, artritis seronegativa, choque, enfermedad de las células falciformes, rechazo del aloinjerto de piel, cambios de la piel, rechazo del injerto de intestino delgado, tumores sólidos, arritmias

específicas, ataxia espinal, degradaciones espinocerebelares, miositis por estreptococos, daño de la estructura cerebelar, panencefalitis esclerosante subaguda, síncope, sífilis cardiovascular, anafilaxis sistémica, un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica extensa, artritis reumatoide juvenil de inicio sistémico, ALL de los linfocitos T o FAB, telangiectasia, trombosis obliterante, trombocitopenia, toxicidad, injertos, trauma/sangrado, reacciones de hipersensibilidad del tipo III, reacciones de hipersensibilidad del tipo IV, angina inestable, uremia, sepsis urinaria, urticaria, enfermedad de la válvula cardiaca, venas varicosas, vasculitis, enfermedades venosas, trombosis venosa, fibrilación ventricular, infecciones virales y micóticas, encefalitis vital / meningitis aséptica, síndrome hemofagocítico vital, síndrome de Wernicke-Korsakoff, enfermedad de Wilson, rechazo del heteroinjerto para cualquier órgano o tejido, síndrome coronario agudo, polineuritis idiopática aguda, neuropatía radicular desmielinizante inflamatoria aguda, isquemia aguda, enfermedad de Stills de inicio en la adultez, alopecia areata, anafilaxis, síndrome del anticuerpo antifosfolípido, anemia aplásica, esclerosis coronaria, eczema atópico, dermatitis atópica, dermatitis autoinmune, trastorno autoinmune asociado con infección por estreptococos, enteropatía autoinmune, pérdida del oído

autoinmune, síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS), miocarditis autoinmune, falla ovárica prematura autoinmune, blefaritis, bronquiectasia, penfigoide bulloso, enfermedad cardiovascular, síndrome antifosfolípido catastrófico, enfermedad celiaca, espondilosis cervical, isquemia crónica, penfigoide cicatrizal, síndrome aislado clínicamente (cis) con el riesgo de esclerosis múltiple, conjuntivitis, trastornos mentales de inicio en la niñez, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), dacriocistitis, dermatomiositis, retinopatía diabética, diabetes mellitus, disco herniado, prolapso del disco intervertebral, anemia hemolítica inmune inducida por fármacos, endocarditis, endometriosis, entoftalmia, episcleritis, eritema multiforme, eritema multiforme severo, penfigoide gestacional, síndrome de Guillain-Barre (GBS), fiebre del heno, síndrome de Hughes, enfermedad de Parkinson idiopática, neumonía intersticial idiopática, alergia mediada por la IgE, anemia hemolítica autoinmune, miositis del cuerpo de inclusión, enfermedad inflamatoria ocular infecciosa, enfermedad desmielinizante inflamatoria, enfermedad cardiaca inflamatoria, enfermedad renal inflamatoria, fibrosis pulmonar idiopática/neumonía intersticial usual, iritis, кератита (sic), queratitis, queratoconjuntivitis seca, enfermedad de Kussmaul o Enfermedad de Kussmaul-Meier, parálisis de Landry,

histiocitosis de las células de Langerhans, piel marmoleada, degeneración macular, poliangiitis microscópica, enfermedad de Bechterew, enfermedad de la neuronas motoras, penfigoide de las mucosas, falla orgánica múltiple, miastenia grave, síndrome de displasia de la médula espinal, miocarditis, trastornos de la raíz nerviosa, neuropatía, hepatitis que no es A, que no es B, neuritis óptica, osteolisis, cáncer de ovario, JIA oligoarticular, enfermedad oclusiva de la arteria periférica, enfermedad vascular periférica, enfermedad de la arteria periférica (PAD), flebitis, poliarteritis nodosa, policondritis, polimialgia reumática, poliosis, artritis idiopática juvenil poliarticular, deficiencia endocrina múltiple, polimiositis, polimialgia reumática (PMR), síndrome postbomba, parkinsonismo primario, cáncer de próstata y rectal y malignidades hematopoyéticas (leucemia y linfoma), prostatitis, aplasia de las células rojas puras, insuficiencia adrenal primaria, neuromielitis óptica recurrente, restenosis, enfermedad cardiaca reumática, SAPHO (sinovitis, acné, pustulosis, hiperostosis y osteítis), esclerodermia, amiloidosis secundaria, pulmón con choque, escleritis, isquias, insuficiencia adrenal secundaria, enfermedad del tejido conectivo asociada con el silicio, enfermedad de Sneddon-Wilkinson, espondilitis anquilosante, síndrome de Stevens-Johnson, síndrome de respuesta de inflamación sistémica, arteritis craneal,

rinitis por Toxoplasma, necrólisis epidérmica tóxica, mielitis transversa, TRAPS (síndrome periódico asociado con el receptor del factor de necrosis del tumor), reacciones alérgicas del tipo I, diabetes del tipo II, urticaria, neumonía intersticial usual, vasculitis, conjuntivitis primaveral, rinitis viral, síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada (síndrome VKH), degeneración macular húmeda, curación de las heridas, y artropatía asociada con *Yersinia* o *Salmonella*.

Descripción de los anticuerpos

La presente invención propone anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen de manera específica a la IL-17A; el dominio variable (V_H) de la cadena pesada comprende 3 regiones hipervariables HCDR1, HCDR2 y HCDR3:

La región hipervariable HCDR1 incluye la SEQ NO: 1;

La región hipervariable HCDR2 incluye la SEQ ID: NO 2, y

La región hipervariable HCDR3 incluye la SEQ ID NO: 3,

El dominio variable (V_L) comprende 3 regiones hipervariables LCDR1, LCDR2 y LCDR3:

La región hipervariable LCDR1 incluye la SEQ ID NO: 4,

La región hipervariable LCDR2 incluye la SEQ ID NO: 5 y

La región hipervariable LCDR3 incluye la SEQ ID NO: 6.

Las modalidades preferidas de la invención involucran un anticuerpo monoclonal o un fragmento del mismo que comprende los dominios variables de las cadenas pesada (VH) y ligera (VL), en donde el anticuerpo o fragmento del mismo comprende:

HCDR1 de F-T-F-S-N-Y-A-M-S (SEQ ID NO: 7);

HCDR2 de R-I-E-G-G-I-S-S-T-Y (SEQ ID NO: 8);

HCDR3 de C-A-V-N-Y-Y-G-M-Y-Y (SEQ ID NO: 9);

Y la región variable VL de la cadena ligera comprende:

LCDR1 de T-G-T-S-E-D-V-G-F-G-N-Y (SEQ ID NO: 10);

LCDR2 de R-V-N-T-R-P-S (SEQ ID NO: 11);

LCDR3 de C-S-S-Y-K-A-G-G-T-Y (SEQ ID NO: 12).

Otra modalidad preferible de la invención involucra un anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo, que se une de manera específica a la IL-17A humana, o un fragmento de anticuerpo que comprende los dominios variables de la cadena pesada (VH) y la cadena ligera (VL), en donde el anticuerpo o su fragmento activo contiene al menos un dominio variable de:

a) El dominio variable de la cadena pesada (VH) de la SEQ ID NO: 13.

b) El dominio variable de la cadena ligera (VL)

de la SEQ ID NO: 14.

el anticuerpo de la invención puede comprender una secuencia de la cadena pesada idéntica a la SEQ ID NO: 15. Otra modalidad de la invención es un anticuerpo que comprende una cadena ligera con una secuencia de aminoácidos idéntica a la SEQ ID NO: 16.

Los anticuerpos de la invención pueden incluir mutaciones adicionales M252Y/S254T/T256E, N434W, N434A, N434F, H433K/N434F/Y436H, H433K/N434F/Y436H+M252Y/S254T/T256E, T307A/E380A/N434A, T250Q/M428L. Las sustituciones mencionadas anteriormente no resultan en la pérdida de la capacidad del anticuerpo para unirse a la IL-17A, sino que puede resultar en la reducción de la ADCC (citotoxicidad mediada por la célula dependiente del anticuerpo) o incrementar la afinidad u otras propiedades biológicas del anticuerpo.

Los anticuerpos de la invención poseen propiedades biológicas mejoradas, especialmente una mejor actividad inhibidora (IC50) con respecto a la IL-17A, así como una estabilidad del agregado mejorada.

También, la invención proporciona un constructo de ADN que codifica los anticuerpos reclamados, y un vector de expresión que comprende el constructo de ADN para la producción de los anticuerpos de la invención.

Además, la invención sugiere una línea celular que

comprende un vector de expresión con el ADN como se describió anteriormente. Esta línea celular puede utilizarse para la producción de los anticuerpos de la invención.

Composición farmacéutica

Un anticuerpo de la invención puede estar involucrado en una composición farmacéutica adecuada para la administración en pacientes (favor de ver el Ejemplo 14). Los anticuerpos de la invención pueden administrarse de manera separada o en combinación con un portador, vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable, en una sola dosis o en dosis múltiples. Las composiciones farmacéuticas para la administración se desarrollaron para cumplir con el modo de administración elegido; y los diluyentes, portadores y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como agentes de dispersión, amortiguadores, agentes con superficie activa, conservadores, agentes sclubilizantes, agentes isotónicos, estabilizantes, etc., se utilizan de manera apropiada (favor de ver el Ejemplo 14). Las composiciones se desarrollaron de acuerdo con los métodos estándar especificados en, por ejemplo, Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 19ava Edición, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA 1995, que describe las técnicas comunes para la producción de la formulación.

Una composición farmacéutica que comprende un

anticuerpo monoclonal anti-IL-17 de la invención, puede administrarse a un paciente que tiene un riesgo de una patología o una patología como se describe en el presente documento, utilizando las técnicas de administración estándar, incluyendo oral, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, pulmonar, transdérmica, intramuscular, nasal, bucal, sublingual o vía supositorios.

Una composición farmacéutica de la invención contiene de manera preferida, o es una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo de la invención. "Cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad efectiva en dosis y durante los periodos de tiempo necesarios para lograr el resultado terapéutico deseado. La cantidad terapéutica efectiva de un anticuerpo puede variar dependiendo de parámetros tales como el estado de la enfermedad, género y peso del sujeto, y capacidad de un anticuerpo o su fragmento para inducir la reacción deseada en el paciente. También, la cantidad terapéutica efectiva es una cantidad para la cual el beneficio terapéutico de un anticuerpo excede los efectos tóxicos o adversos. "Cantidad profiláctica efectiva" se refiere a una cantidad efectiva en dosis y durante los periodos de tiempo necesarios para lograr el resultado profiláctico deseado. Puesto que las dosis profilácticas se utilizan en sujetos antes de la enfermedad o en una etapa inicial de la enfermedad,

típicamente, la cantidad profiláctica efectiva puede ser menor que la cantidad terapéutica efectiva.

La cantidad terapéuticamente efectiva o profiláctica efectiva es al menos una dosis mínima, pero menor que la dosis tóxica de un ingrediente activo, requerida para asegurar el beneficio terapéutico para el paciente. Al mismo tiempo, una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo de la invención, es una cantidad que reduce la actividad de la IL-17 (por ejemplo, que se une a IL-17R) en los mamíferos, de manera preferida humanos, en los cuales la presencia de IL-17 causa o fomenta cualquier efecto patológico adverso, o si la reducción de IL-17 resulta en un beneficio terapéutico en los mamíferos, de manera preferida humanos.

La ruta de administración de un anticuerpo de la invención puede ser oral, parenteral, por inhalación o local. De manera preferida, los anticuerpos de la invención pueden involucrarse en una composición aceptable para la administración parenteral. El término "parenteral", como se utiliza en el presente documento, incluye la administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, rectal, vaginal o intraperitoneal. Las inyecciones intravenosas, intraperitoneales o subcutáneas son las rutas de administración preferidas. Los portadores farmacéuticos aceptables para tales inyecciones son bien conocidos de la

técnica previa.

Como se describe en los lineamientos apropiados, las composiciones farmacéuticas deben ser estériles y estables tras la producción y almacenamiento en un recipiente, que se proporciona, por ejemplo, en viales sellados herméticamente (por ejemplos, ampollas) o jeringas. Así, las composiciones farmacéuticas pueden someterse a esterilización por filtración después de preparar la composición, o pueden hacerse microbiológicamente adecuadas mediante cualquier otro método. Una composición típica para una infusión intravenosa puede incluir 250-1000 ml de fluido, tal como solución de Ringer estéril, solución salina normal, solución de dextrosa o solución salina de Hank, y una dosis terapéuticamente efectiva (por ejemplo, 1-100 mg/ml o más) de un concentrado de anticuerpo. Las dosis pueden variar dependiendo del tipo y severidad de la enfermedad. Es bien conocido del estado de la técnica médica, que las dosis para un cierto paciente dependen de múltiples factores, incluyendo los tamaños del paciente, área de superficie corporal, edad, compuesto específico a ser administrado, género, duración y ruta de administración, estado de salud general y medicaciones administradas de manera simultánea. Una dosis típica puede, por ejemplo, estar en el intervalo de 0.001-1000 µg; sin embargo, se anticipan dosis menores y más altas que este intervalo

ilustrativo, especialmente dados los parámetros mencionados anteriormente. El régimen de dosificación parenteral diario puede ser de 0.1 µg/kg a 100 µg/kg de peso corporal, de manera preferida de 0.3 µg/kg a 10 µg/kg, y además de manera preferida de 1 µg/kg a 1 µg/kg, de manera más preferida de 0.5 a 10 µg/kg de peso corporal por día. El proceso de tratamiento puede vigilarse mediante la valoración periódica del estado de salud del paciente. Para la administración repetida durante varios días o más, dependiendo de la condición del paciente, el tratamiento se repite hasta la respuesta deseada o el control de la enfermedad. Sin embargo, otros regímenes de dosificación no descritos en el presente documento también pueden aplicarse. La dosis apropiada puede administrarse mediante una dosificación de un solo bolo o múltiples bolos, o por medio de una infusión continua de un anticuerpo, dependiendo de la distribución farmacocinética deseada.

Las propiedades asumidas de un anticuerpo dependen en gran medida de la decisión del médico. El efecto pretendido es un factor clave para elegir una dosis y régimen apropiados. Los parámetros considerados en el presente documento incluyen una cierta enfermedad a ser tratada, un cierto mamífero para recibir el tratamiento, la condición clínica de un cierto paciente, la causa del trastorno, el sitio de administración, un cierto tipo de

anticuerpo, la ruta de administración, el modo de administración y otros factores bien conocidos de la técnica médica.

Los agentes terapéuticos de acuerdo con la invención, pueden congelarse y liofilizarse, y recuperarse en un portador estéril antes de la administración. El secado por congelación y la recuperación puede resultar en algo de pérdida de la actividad del anticuerpo. Las dosis pueden ajustarse para compensar esta pérdida. En general, el pH de la formulación de 6 a 8 es preferible.

Artículos Manufacturados

En otra modalidad, se proporciona un artículo manufacturado que contiene los materiales útiles para el tratamiento o prevención de los trastornos descritos anteriormente.

El artículo manufacturado comprende un recipiente con una composición farmacéutica que contiene el anticuerpo, y una etiqueta o inserto del paquete. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, viales, ampollas, jeringas y tubos analíticos. Los recipientes pueden formarse de una variedad de materiales, tales como vidrio o plástico. El recipiente comprende una composición de la invención, que es efectiva para tratar una enfermedad o trastorno mediado por la Il-17A y puede tener una abertura de acceso estéril (por

ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable mediante una aguja para inyección hipodérmica). El anticuerpo anti-IL-17 de la invención, es un ingrediente activo de la composición. La etiqueta o inserto del paquete demuestra que la composición se utiliza para tratar la condición deseada. Además, el artículo manufacturado puede comprender un segundo recipiente con un amortiguador farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina amortiguada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Puede incluir además, otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros amortiguadores, diluyentes, filtros, agujas, jeringas e insertos del paquete.

Los ejemplos siguientes se presentan para propósitos ilustrativos únicamente, y no pretenden limitar el alcance de la presente invención.

Ejemplos

Ejemplo 1

Producción de antígenos recombinantes y anticuerpos en el cultivo de células de mamífero en suspensión

Los anticuerpos y antígenos se generaron en una línea celular establecida obtenida de las células de ovario de hámster chino (CHO-K1), de acuerdo con los protocolos

publicados [Biotechnol Bioeng. 2005 Sep 20; 91(6):670-677, Liao Metal., 2004; Biotechnol Lett. 2006 Jun; 28(11):843-848; Biotechnol Bioeng. 2003 Nov 5;84(3):332-342]. Se utilizaron las células que expresan de manera consecutiva el gen de la proteína EBNA1 (antígeno 1 nuclear del virus de Epstein-Barr). El cultivo en suspensión se realizó en matraces en un agitador orbital utilizando un medio libre de suero de Life Technologies Corporation y de acuerdo con los lineamientos del fabricante. Para la expresión transitoria, las células en una concentración de $2*10^6$/ml, se transfectaron por medio de polietilenimina lineal (PEI MAX, Polysciences). La relación de ADN/PEI fue de 1:3-1:10. En 5-7 días después de la transfección, el cultivo celular se centrifugó bajo 2000g durante 20 minutos y se filtró a través de un filtro de 0.22 µm. Las proteínas objetivo del líquido de cultivo se aislaron mediante HPLC por afinidad.

La proteína IL-17A recombinante que contiene 6 aminoácidos de His en la región C terminal se aisló y purificó del líquido de cultivo en resina cargada con Ni IMAC Profinity (Bio-Rad). Antes de los procedimientos de purificación, se agregó $NiCl_2$ al líquido de cultivo a una concentración de 1 mM. A continuación, se agregaron 5 ml de resina cargada con Ni IMAC Profinity al líquido de cultivo, y se mezclaron en un agitador durante 1 hora a temperatura ambiente. El sorbente se transfirió a columnas de

Polipropileno Thermo scientific de 5 ml y se lavó con 5 volúmenes de columna de PBS para eliminar los componentes unidos de manera no específica. La unión al antígeno se eluyó con imidazol 0.3 M (pH 8) y NaCl 150 mM. A continuación, la proteína se dializó en PBS (pH 7.4) por medio de la técnica SnakeSkin Dialysis Tubing, se filtró (0.22 µm), se transfirió a tubos y se almacenó a -70°C. La pureza de la proteína obtenida se evaluó mediante SDS-PAGE (Figura 1).

La proteína IL-17A-Fc recombinante se aisló y purificó del cultivo celular en la columna de Proteína A para HPLC por afinidad. El líquido de cultivo aclarado se pasó a través de una columna de Sepharose FF y rProteína A HiTrap de 5 ml (GE Healthcare) equilibrada con PBS (pH 7.4). A continuación, la columna se lavó con 5 volúmenes de PBS para eliminar los componentes no unidos. El antígeno se eluyó con amortiguador de glicina 0.1 M, pH 3. El pico de elución principal de la proteína se recolectó y se llevó a pH neutro con amortiguador de Tris 1 M (pH 8). Todas las etapas se realizaron bajo una velocidad de flujo de 11 cm/hora. La proteína aislada se dializó a continuación en PBS (pH 7.4), utilizando la técnica SnakeSkin Dialysis Tubing, se filtró (0.22 µm), se transfirió a tubos y se almacenó a -70°C. La pureza de la proteína obtenida se evaluó mediante SDS-PAGE (Figura 2).

Los anticuerpos de IgG1 se purificaron en una columna de FF y rProteína A Hi Trap de 1 ml (GE Healthcare), de acuerdo con el procedimiento mencionado anteriormente para la IL-17A-Fc. La pureza de la proteína obtenida se evaluó mediante SDS-PAGE (Figura 3).

Ejemplo 2

Inmunización de una llama con IL-17A humana y generación de la biblioteca de Fab de los anticuerpos de llama con representación del fago

Lama Glama se inmunizó 5 veces en sucesión por medio de la administración subcutánea del material del antígeno mezclado con un volumen igual de adyuvante de Freund completo (primera inyección) o incompleto. Una mezcla de las proteínas recombinantes (0.2 mg de cada proteína por inyección), una de las cuales fue IL-17A humana (Equipo de R&D Systems), se utilizó como un antígeno. La segunda inyección (etapa de inmunización), se realizó 3 semanas después de la primera; se realizaron tres inmunizaciones más con un intervalo de 2 semanas. 5 muestras de sangre (50 ml) se recolectaron después de cada inyección, empezando desde la tercera.

La sangre se diluyó 2 veces con PBS que contiene EDTA 1 mM. A continuación, 35 ml de la sangre diluida se colocaron sobre 15 ml de medio Histopaque® -1077 (Sigma, densidad de 1.077 g/ml), y se centrifugaron durante 20

minutos bajo 800g. Las células mononucleares (linfocitos y monocitos), se seleccionaron de la zona de la interfaz del plasma/medio Histopaque y se lavaron con PBS que contiene EDTA 1 mM.

El ARN total de las células mononucleares de llama se aisló utilizando el Mini Equipo RNeasy de acuerdo con el protocolo (QIAGEN). El ensayo de concentración del ARN se realizó utilizando Nanovue (GE Healthcare); la calidad del ARN aislado se probó por medio de electroforesis sobre gel de agarosa al 1.5%.

La reacción de transcripción inversa se realizó utilizando el equipo MMLV RT (Evrogen), de acuerdo con el protocolo recomendado con la transcriptasa inversa MMuLV y cebadores de hexámero aleatorios.

Los productos de la transcripción inversa se utilizaron como una matriz en una reacción en cadena de la polimerasa de dos etapas para obtener los genes de los dominios variables flanqueados con los sitios de restricción; la reacción se realizó utilizando el equipo del oligonucleótido y los protocolos por [J Biol Chem. 1999 Jun 25; 274(26): 18218-30; documento WO 2010/001251]. Además, los genes que codifican los dominios variables de las cadenas ligera y pesada se pusieron juntos en un fragmento, por medio de reacciones de restricción, ligación y amplificación secuenciales, como se muestra en la Figura 4.

Los genes de la cadena pesada se unieron de manera separada a los genes de la cadena ligera kappa y lambda. En este caso, el conteo estimado de las moléculas de la matriz en todas las reacciones fue no menor que 10^{11}. El ADN del producto obtenido (VL-CK-VH), se trató con las enzimas de restricción NheI/Eco91I y se ligaron en el fagémido original a pH 5. La estructura del fagémido se presenta en la Figura 5. Los productos de la ligadura se transformaron en células electrocompetentes SS320 preparadas de acuerdo con los protocolos [Methods Enzymol. 2000; 328: 333-63]. El repertorio de bibliotecas de Fab kappa y lambda construidos, fue de $5.1*10^{8}$ y $3.7*10^{8}$, respectivamente. El producto de la biblioteca de representación del fago sin exposición se preparó de acuerdo con un procedimiento descrito anteriormente [J Mol Biol. 1991 Dec 5;222(3):581-97].

Ejemplo 3

Selección de las bibliotecas de Fab de los anticuerpos con representación del fago

Los anticuerpos Fab con representación del fago anti-IL17A específicos, se seleccionaron de una biblioteca de representación del fago de Fab utilizando la IL-17A humana recombinante (un equipo de R&D Systems); se realizó una serie de ciclos de selección, como se describe en J Biol Chem. 1999 Jun 25; 274(26): 18218-30; Nat Biotechnol. 1996 Mar; 14(3):309-14; J Mol Biol. 1991 Dec 5;222(3): 581-97.

Para realizar el proceso de selección mediante el método de toma panorámica, la IL-17A humana en amortiguador de carbonato 50 mM (pH 9.5), se adsorbió durante la noche a 4°C en la superficie de tubos HighSorb (Nunc). Además, los tubos se lavaron con PBS (pH 7.4), y a continuación se bloquearon con solución que contiene PBS (pH 7.4) - leche descremada (0.5% en peso/volumen) durante 1 hora. A continuación, 2-4 ml de la solución del fago (10^{12} de partículas del fago por ml) en PBS (pH 7.4) - leche descremada (0.5% en peso/volumen), se transfirieron al tubo con el antígeno, y el sistema se incubó durante 1 hora bajo agitación. Los fagos no unidos se eliminaron mediante una serie de ciclos de lavado con PBS (pH 7.4) - Tween 20 (0.1% en volumen/volumen). El número de ciclos de lavado se incrementó de la primera ronda a la tercera - 20-30-40 veces, respectivamente. Las partículas del fago que permanecieron unidas se eluyeron con solución de Gly-HCl 100 mM (pH 2.5) durante 15 minutos bajo agitación, y a continuación se neutralizaron con TRIS-HCl 1 M (pH 7.6). Las bacterias *E. coli* TG1 se infectaron con los fagos obtenidos; los fagos adicionales se aislaron y utilizaron en el siguiente ciclo.

Ejemplo 4

Generación de las bibliotecas de Fab del anticuerpo quimérico con representación del fago

El ARN total de los linfocitos B de la sangre recolectada de 550 sujetos se aisló utilizando el Mini Equipo RNeasy de acuerdo con el protocolo (QIAGEN). El ensayo de concentración del ARN se realizó utilizando el equipo Nanovue (GE Healthcare), mientras que la calidad del ARN aislado se probó mediante electroforesis sobre gel de agarosa al 1.5%.

La reacción de transcripción inversa se realizó utilizando el equipo MMLV RT (Evrogen), de acuerdo con el protocolo recomendado con la transcriptasa inversa MMuLV y los cebadores del hexámero aleatorios.

Los productos de la transcripción inversa se utilizaron como una matriz para una reacción en cadena de la polimerasa de dos etapas para obtener los genes del dominio variable flanqueados con los sitios de restricción; la reacción se realizó utilizando un equipo del oligonucleótido y el protocolo de J Biol Chem. 1999 Jun 25; 274(26): 18218-30. Los Fab quiméricos que son específicos contra la IL-17A se diseñaron utilizando la tecnología descrita en una publicación internacional WO93/06213, y basándose en un fagémido original a pH5 descrito anteriormente. Para este propósito, los genes de los dominios variables de la cadena ligera del donador humano y los genes del dominio variable de la cadena pesada del anticuerpo A1 de llama se conectaron en un solo fragmento por medio de reacciones de restricción,

ligación y amplificación sucesivas, como se muestra en una gráfica (Figura 6). De manera similar, los genes del dominio variable de la cadena ligera A1 del anticuerpo de llama, los genes de los dominios variables de la cadena pesada del donador humano y los genes del dominio variable de la cadena pesada A1 del anticuerpo de llama, se conectaron en un solo fragmento por medio de reacciones de restricción, ligación y amplificación sucesivas, como se muestra en la Figura 7. El número estimado de moléculas de la matriz de los genes del dominio variable humano en todas las reacciones fue no menor que 10^{12}. La preparación del ADN obtenida VL-CK-VH, se trató con las enzimas de restricción NheI/Eco91I y se ligaron en un fagémido original a pH 5. Los productos de la ligación se transformaron en células electrocompetentes SS320 preparadas de acuerdo con los protocolos descritos en [Methods Enzymol. 2000;328: 333-63]. El repertorio de la biblioteca de Fab quimérico chA1VH/hVL basada en la cadena pesada de la clona A1 y las cadenas humanas kappa y lambda mezcladas incluía $2.8*10^{9}$ transformantes. El repertorio de las bibliotecas de Fab quiméricos de chA1VL/hVH basadas en la cadena ligera de la clona A1 y las cadenas pesadas humanas, incluían $1.1*10^{10}$ transformantes. Las preparaciones del fago de las bibliotecas de Fab quiméricos se prepararon de acuerdo con el procedimiento descrito en [J Mol Biol. 1991 Dec 5;

222(3): 581-97].

La selección de las bibliotecas de Fab quimérico con representación del fago obtenidas, se realizó bajo las condiciones similares a aquéllas descritas anteriormente (referirse a la selección de las bibliotecas de Fab con representación del fago).

Después de la segunda ronda de selección en la IL-17A, ambas bibliotecas demostraron un enriquecimiento significativo. Las clonas agrupadas resultantes de las bibliotecas de Fab quimérico enriquecidas, se utilizaron como fuente para las combinaciones de los genes del dominio variable humano VH y VK/VL específicos contra la IL-17A.

Ejemplo 5

Diseño de las bibliotecas del anticuerpo anti-IL-17A del Fab-fago humano con representación del fago

Para crear los anticuerpos de Fab-fago humanos contra la IL-17A, las clonas agrupadas de las bibliotecas de Fab quimérico enriquecido se utilizaron como una fuente para la integración de los genes de los dominios variables VH y VK/VL humanos específicos contra la IL-17A. A este respecto, los genes de las cadenas ligeras humanas se amplificaron con los cebadores específicos de la biblioteca chA1VH/hVL enriquecida después de una segunda ronda, mientras que los genes de las cadenas pesadas humanas se

amplificaron con los cebadores específicos de la biblioteca chA1VL/hVH enriquecida después de una segunda ronda. Ambas agrupaciones de los dominios variables de la cadena humana se combinaron de manera sucesiva por medio de la restricción con la enzima de restricción SfiI, ligación y amplificación de acuerdo con el patrón mostrado en la Figura 7. El producto del ADN de VL-CK-VH obtenido se trató con las enzimas de restricción NheI /Eco91I y se ligó en el fagémido original a pH5. Los productos de la ligación se transformaron a células electrocompetentes SS320 preparadas de acuerdo con [Methods Enzymol. 2000; 328:333-63]. El repertorio de la biblioteca de Fab de las cadenas pesada y ligera humanas fue de $8.6*10^8$. Las preparaciones de las bibliotecas de Fab quimérico con representación del fago se obtuvieron de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente [Mol Biol. 1991 Dec 5;222(3): 581-97].

La selección de las bibliotecas de Fab quimérico del fago obtenidas, se realizó bajo las mismas condiciones que las descritas para la selección de las bibliotecas de Fab del fago.

Después de una segunda ronda de selección en la IL-17A, el ELISA realizado para un producto del fago policlonal mostró un enriquecimiento significativo. Una clona agrupada resultante enriquecida con Fab humano y específico contra la IL-17A, se volvió a clonar en un

plásmido de expresión.

Ejemplo 6A

Análisis de la unión específica de Fab con la IL-17A-Fc humana

Se utilizó un ELISA para medir la unión de los fragmentos Fab estudiados con la IL-17A humana. El Fab con la secuencia AIN457 publicada (Novartis), se utilizó como un control positivo. Los pozos de la placa para ELISA (Nunc ImmunoMaxisorp), se recubrieron con 50 µl (0.5 µg/ml en amortiguador de carbonato de recubrimiento 1X) de IL-17A-Fc, se cerraron herméticamente y se incubaron durante la noche a 4°C. Todas las etapas adicionales se realizaron de acuerdo con los protocolos del ELISA estándar con sistemas de alto rendimiento, tales como GenetixQ-pix2xt (Molecular Devices) y Tecan Freedom EVO 200 (Tecan). La unión no específica se bloqueó agregando el amortiguador de bloque BB (200 µl de leche descremada al 0.5% en PBS). Las placas se incubaron en un agitador durante 1 hora a temperatura ambiente. Después del lavado con PBS-Tween, cada célula se recubrió con 50 µl del sobrenadante celular que contiene el Fab de prueba mezclado con el volumen igual de BB. Las placas se incubaron en un agitador durante 1 hora a temperatura ambiente; además, cada pozo de la placa se lavó 5 veces con amortiguador de PBS-Tween. Después de lavado, cada pozo se recubrió (50 µl/pozo) con el anticuerpo secundario conjugado

con HRP Fab antihumano (Pierce-ThermoScientific) en PBS-Tween (1:5000). Las placas se transfirieron a un agitador por rotación (50 minutos a temperatura ambiente) y a continuación se lavaron 5 veces con amortiguador de PBS-Tween como se describió anteriormente. La señal colorimétrica se obtuvo agregando TMB (100 µl/pozo) hasta la saturación (promedio de 3-5 minutos); el desarrollo adicional del color se bloqueó agregando la solución de paro (100 µl/pozo, ácido sulfúrico al 10%). La absorbancia se midió a 450 nm utilizando un lector de placas Tecan-Sunrise apropiado (Tecan). La unión del anticuerpo fue proporcional a la señal producida.

Por ejemplo, los resultados del ELISA obtenidos de una placa con el Fab de llama después de una segunda ronda de selección, se muestran en la Figura 9. El histograma representa un número de clonas positivas con una señal por encima o por debajo del Fab de control (AIN457) (marcado en color rojo) o aquéllas que nunca se unieron a un antígeno inmovilizado (0.1-0.2 unidades relativas).

Ejemplo 6B

ELISA competitivo del bloqueo de la interacción del ligando de IL17A y el receptor de IL17R

La técnica del ELISA competitivo se utilizó para probar la capacidad antagonista del Fab seleccionado previamente específico contra la IL-17A-Fc humana. El Fab

con la secuencia AIN457 publicada (Novartis), se utilizó como el control del antagonista positivo. Los pozos de la placa para ELISA (Nunc Immuno Maxisorp), se recubrieron con 50 µl/pozo del receptor de IL-17RA-Fc (R&D Systems; 1 µg/ml de solución en amortiguador de carbonato de recubrimiento 1X), y se incubaron durante la noche a 4°C. Todas las etapas adicionales se realizaron de acuerdo con los protocolos del ELISA estándar con sistemas de alto rendimiento tales como GenetixQ-pix2xt (Molecular Devices) y Tecan Freedom EVO 200 (Tecan). La unión no específica se bloqueó agregando el amortiguador de bloqueo BB (200 µl de leche descremada al 0.5% en PBS). Las placas se incubaron durante 1 hora en un agitador a temperatura ambiente.

En paralelo, 50 µl del sobrenadante celular que contiene el Fab de prueba en una placa de 96 pozos sin unión, se mezclaron con 50 µl de IL-17A-His6-Flag (0.4 µg/ml en leche al 1% diluida con PBS-Tween). La placa se incubó durante 1 hora a 37°C en un agitador bajo 500 rpm.

Después de que la placa que contiene el receptor de IL-17RA-Fc se lavó de la solución BB, se recubrió con la mezcla de reacción de Fab e IL-17A-His6-Flag en la cantidad de 90 µl por pozo. Las placas se incubaron bajo agitación durante 45 minutos a temperatura ambiente. Y cada pozo se lavó 5 veces con amortiguador de PBS-Tween. Se agregaron 50 µl/pozo adicionales de 1 µg/ml del anticuerpo M2 murino

anti-FLAG (Sigma), y las placas se incubaron durante 45 minutos a temperatura ambiente. Después de la incubación, cada pozo de la placa se lavo 5 veces con PBS-Tween, y cada pozo se recubrió con 50 µl del anticuerpo secundario conjugado con HRP de IgG antimurino (Pierce-ThermoScientific) diluido a 1:5000 con PBS-Tween. Las placas se incubaron en un agitador por rotación durante 45 minutos a temperatura ambiente y se lavaron 5 veces con PBS-Tween, como se mencionó anteriormente. La señal colorimétrica se obtuvo agregando TMB (100 µl/pozo) hasta la saturación (promedio de 3-5 minutos); el desarrollo adicional del color se bloqueó agregando la solución de paro (100 µl/pozo, ácido sulfúrico al 10%). La absorbancia se midió a 450 nm utilizando un lector de placa Tecan-Sunrise apropiado (Tecan). La unión del anticuerpo fue proporcional a la señal producida.

Por ejemplo, los resultados del ELISA obtenidos de una placa con Fab de llama después de una segunda ronda de selección se muestran en la Figura 10. El histograma representa un número de clonas positivas con una señal comparable (0.05-0.1 unidades relativas) a aquélla del Fab de control (AIN457, marcado en color rojo), o las clonas que nunca bloquearon la interacción de IL-17A/IL-17R (señal similar a aquélla obtenida con los controles de la interacción directa del ligando-receptor, marcada como azul

oscuro).

Ejemplo 7

Selección de koff comparativa de los candidatos de Fab anti-IL-17A humana

La selección de koff se realizó para los candidatos de Fab anti-17A. La selección de koff se llevó a cabo utilizando el sistema Pall Forte Bio Octet Red 96. Los biosensores anti-FABCH1 se rehidrataron durante 30 minutos en amortiguador de trabajo que comprende PBS 10 mM (pH 7.2-7.4), Tween-20 al 0.1% y BSA al 0.1%. Se agregó 10x del amortiguador de trabajo a las muestras de prueba de los sobrenadantes de *E. coli* hasta una concentración final de 1x. A continuación, los biosensores anti-FABCH1 se remojaron en los sobrenadantes de *E.coli* que contienen los fragmentos Fab de los anticuerpos candidatos y se incubaron durante 12 horas a una temperatura de 4°C. Los sensores recubiertos con los fragmentos Fab se transfirieron a pozos con amortiguador de trabajo, y se registró una línea basal (60 segundos). A continuación, los sensores se transfirieron a pozos con la solución del analito (IL-17A, 30 µg/ml), para lograr la asociación del antígeno-anticuerpo (300 segundos). Después de eso, los sensores se regresaron a los pozos con el amortiguador de trabajo para la disociación adicional (300 segundos). Los sensores usados se sometieron a regeneración después de cada prueba: se

colocaron tres veces en amortiguador de regeneración (Gly-HCl, pH 1.7), y a continuación eran aplicables para utilizarse en experimentos adicionales. Las curvas obtenidas se analizaron utilizando el Análisis de Datos Octet (versión 7.0), de acuerdo con el procedimiento estándar con el modelo de interacción 1:1.

Los resultados obtenidos para la selección de koff de los candidatos humanos de Fab anti-IL-17A se muestran en la Figura 11.

Ejemplo 8

Mutagénesis de barrido de las CDR de dominio variable y selección de los candidatos con alta afinidad

Las mutaciones en las posiciones individuales de las CDR de los candidatos se insertaron por medio de la técnica de aleatorización NNK [Appl Environ Microbiol. 2006 Feb; 72(2):1141-7; MAbs. 2012 May-Jun; 4(3):341-8], utilizando el Equipo de Mutagénesis Dirigida al Sitio Q5® (o NEB) de acuerdo con el protocolo. El plásmido A1-Fab-pLL se utilizó como una matriz. Los productos de la PCR se fraccionaron en agarosa con bajo punto de fusión y se purificaron en columnas apropiadas. Después de la ligación, el ADN se transformó a la cepa de expresión de *E. coli* BL21gold (Stratagene). Las clonas individuales obtenidas se recuperaron nuevamente mediante la expresión de Fab en las

placas de 96 pozos, como se describió anteriormente. Los sobrenadantes que contienen los brazos del Fab mutante, se analizaron mediante ELIZA bajo las condiciones descritas anteriormente, y utilizando los sistemas Genetix Q-pix2xt y Tecan Freedom EVO200 de alto desempeño. La concentración de la IL-17A inmovilizada fue de 0.2 µg/ml. Los brazos del Fab unido se tiñeron con conjugado (HRP) de (Fab')2 anti-IgG Humana de Cabra diluido a 1:5000 (Pierce), y TMB+H2O2/ tinte de H2SO4; la absorción se midió a una longitud de onda de 450 nm.

Los resultados obtenidos mediante la mutagénesis de barrido se presentan en la Tabla 1. La Tabla muestra las sustituciones dentro de la CDR que corresponden a ≤30% de reducción de la señal de unión del Fab mutante/Il-17A humana cuando se compara con la secuencia del tipo silvestre. Así, tales mutantes individuales o cualquier combinación de los mismos son la invención.

Tabla 1. Mutagénesis de barrido

Posición de la mutación	Aminoácidos positivos en los mutantes	Posición de la mutación	Aminoácidos positivos en los mutantes
HCDR3		**LCDR3**	
V99	R, N, A, I	A91	S
N100	E, L, M, S, T, V	S92	G, T
Y101	-	Y93	A, F, I
Y102	F,V	R94	K

Posición de la mutación	Aminoácidos positivos en los mutantes	Posición de la mutación	Aminoácidos positivos en los mutantes
G103	S	A95	S
M104	A, F, L, P, Y	G96	F
Y105	F, H, I, M, S, W	G97	H
Y106	A, I, N, R, S, V	T98	-
		Y99	I, L, W
HCDR2		**LCDR2**	
R50	G, I, L, M, S	R52	E, L, M
D52	D, E	V53	L, S
G53	M	N54	G
G54	L, R, V	T55	I, K, L, M, R, W
I55	L		
S57	L, R, T, W		
S58	T, Y		
T59	L, R, S, W		
Y60	T, L, K		
HCDR1		**LCDR1**	
N31	D, K, L, M, P, T	E27	N, R
Y32	F	D28	S, T
A33	G, M, N, S ,T, V	V29	L, R
M34	I	G30	V
S35	G, N, T	F31	L, S, T, V, Y
		G32	L, V
		N33	P, R, S
		Y34	A, L, W

Así, la selección se realizó para las posiciones de aminoácidos de la CDR del anticuerpo BCD085 que son tolerantes a las sustituciones de los aminoácidos. Se demostró que el presente panel de sustituciones de

aminoácidos no cambia de manera significativa la unión del anticuerpo con la IL-17A humana. El panel de sustitución puede utilizarse para mejorar varias propiedades del candidato.

Ejemplo 9

Diseño de una línea celular estable, producción y purificación de un anticuerpo

Una línea celular estable que produce los anticuerpos BCD085 se obtuvo mediante la transfección de la línea celular CHO-S de la suspensión original con los constructos del vector que comprenden la relación óptima de las cadenas ligera y pesada del anticuerpo. Los linajes clonales de alto nivel (más de 100 mg/L), se obtuvieron utilizando la plataforma robótica ClonePix (Molecular Devices). La productividad de las clonas seleccionadas se analizó mediante los robóticos Biomek FX (Beckman Coulter) y el sistema analítico Octet RED96 (Pall Life Sciences). El productor se cultivó en medio libre de suero que no contiene proteínas derivadas de animales. El BCD085 para los estudios preclínicos se acumuló en un biorreactor de un solo uso HyClone (Thermoscientific) de un volumen de operación de 200 L.

El líquido de cultivo se filtró a través de un filtro de profundidad Zeta Plus Maximizer 4516701 60M02

equipado con una bomba peristáltica. La purificación primaria del anticuerpo se realizó en un medio de afinidad de Proteína A MabSelect (GE Healthcare Life Sciences). Después del aclarado mediante filtración profunda, el líquido de cultivo se aplicó al sorbente equilibrado con un amortiguador que comprende HCl-Tris 50 mM (pH 7.5) y NaCl 150 mM. El sorbente se lavó a continuación con amortiguador de equilibrio, seguido por HCl-Tris de baja conductividad. La elución de la proteína se realizó utilizando amortiguador de Gly-HCl (pH 3.5). El eluato recolectado se expuso a pH ácido durante 30 minutos para el propósito de la inactivación viral, y a continuación se neutralizó con Tris-base 1M a pH 6.8. Cuando se llevó al pH apropiado, la solución de la proteína se filtró en sistemas STERICUP con una membrana de 0.22 µm MilliporeExpressPlus® (PVDF). La purificación final para eliminar el ADN, las proteínas de la célula hospedera y el ligando del sorbente afín liberado, se realizó haciendo fluir la solución de la proteína a través de FF de Q Sepharose preparada (GE HealthCare), pH 7.0, bajo baja conductividad (<2 msegundos/cm^2). La proteína purificada se sometió a continuación a filtración para eliminar los virus en un filtro UltiporVF (PALL), concentrando y diafiltrando contra el amortiguador final que contiene His/HisHCl (pH 6.0-6.5), Tween-80 y trehalosa. La concentración de la proteína fue de 50 mg/ml y mayor. La

purificación de la proteína obtenida se evaluó mediante SDS-PAGE (Figura 12).

Además, la composición del agregado del producto se valoró mediante HPLC por exclusión de tamaño (Figura 13).

El análisis cromatográfico se realizó utilizando un sistema Agilent 1100 y una columna Tosoh TSK-Gel G3000SWXL de 7.8 mm x 30 cm (No. de Catálogo 08541) con una precolumna Tosoh TSKgel Guard SWXL de 6.0 mm x 4.0 cm (partículas de 7 µm, No. de Catálogo 08543). La elución isocrática con la fase móvil que contiene amortiguador de fosfato de sodio 50 mM y NaCl 0.3 M (pH 7.0), se realizó bajo una velocidad de flujo de 0.5 ml/minuto, con la detección a las longitudes de onda de 214 nm y 280 nm. Las muestras del anticuerpo se diluyeron con PBS (pH 7.5) a una concentración de ~1 mg/ml. El volumen de la inyección fue de 10 µl. Se utilizó la mezcla estándar para filtración en gel (Bio-Rad, No. de Catálogo 151-1901), para calibrar la columna antes de la prueba.

Los resultados obtenidos mediante la HPLC por exclusión de tamaño se presentan en la Figura 14. El contenido del agregado en la sustancia BCD085 fue de 0.312%.

Ejemplo 10

Prueba celular para bloquear la capacidad de la IL-17A para inducir la producción de IL-6

La capacidad de la IL-17 para inducir la producción de la IL-6 por las células HT1080 humanas (ATCC:CCL-121), se utilizó para analizar la capacidad neutralizante de BCD085 con respecto a la IL-17 recombinante humana. Las células se cultivaron en medio de cultivo DMEM con suero fetal inactivado al 10% agregado, gentamicina y glutamina. Las alícuotas de $5*10^4$ células/pozo, se sembraron en placas de cultivo de 96 pozos. Las células se dejaron adherir durante 5 horas. La mezcla de 40 ng/ml de IL-17 recombinante y 20 ng/ml de TNF-α se incubó con diluciones de BCD085 durante 1 hora a 37°C. A continuación, la mezcla de citocina/anticuerpo se agregó a las células y se dejó durante la noche. La producción de IL-6 por el cultivo celular de HT1080 fue proporcional a la cantidad de IL-17 agregada. La cantidad de IL-6 liberada en las muestras del sobrenadante celular se evaluó mediante la técnica de ELISA utilizando IL6 Humana con Sistema de Revelado por ELISA DuoSet (RD System, No. de Catálogo DY206). Los resultados obtenidos de la evaluación de las propiedades antagonistas del candidato BCD085 se muestran en la Figura 14, en comparación con AIN457 (anticuerpo anti-IL-17A de Novartis). La IC_{50} media para este candidato obtenido de una serie de experimentos fue de 40 ± 15 pM.

Ejemplo 11

Determinación de la afinidad de BCD085 por la IL-17A de varios organismos

La afinidad de BCD085 que se une con la IL-17A humana, de mono y rata, se analizó en OctetRed 96 (ForteBio). BCD085 no se inmovilizó de manera específica en la superficie de los sensores de segunda generación reactivos a la amina (AR2G) de acuerdo con el protocolo estándar descrito en el manual del fabricante. La prueba se realizó a una temperatura de 30°C y utilizando PBS con Tween-20 al 0.1% y BSA al 0.1% como el amortiguador de trabajo.

La IL-17A humana, de mono y de rata, se tituló con el amortiguador de trabajo de una concentración de 126 nM a 2 nM con un incremento de 2.

Las curvas de unión (después de sustraer una señal de referencia) se analizaron utilizando el programa Octet Data Analysis (Versión 7.0) de acuerdo con el procedimiento estándar y utilizando un modelo de interacción de 1:1. Los resultados se presentan en las Figuras 15 y 16.

BCD085 se une a la IL-17A humana con afinidad picomolar, que es 1000 veces más fuerte que la afinidad nanomolar para la IL-17A de mono. Además, el candidato no interactúa con la IL-17A de rata (no se presentan curvas).

Ejemplo 12

Determinación de la estabilidad de la agregación de BCD085

bajo estrés térmico

La preparación de BCD085 de 9 mg/ml en PBS se calentó durante 6 horas a una temperatura de 50°C. La agregación después del estrés térmico se evaluó mediante HPLC por exclusión de tamaño. El análisis cromatográfico se realizó en un sistema Agilent 1100 con una columna Tosoh TSK-Gel G3000SWXL (7.8 mm x 30 cm, No. de Catálogo 08541) y una precolumna Tosoh TSKgel Guard SWXL (6.0 mm x 4.0 cm, partículas de 7 µm, No. de Catálogo 08543). La elución isocrática con la base móvil que contiene amortiguador de fosfato de sodio 50 mM y NaCl 0.3 M (pH 7.0), se realizó bajo una velocidad de flujo de 0.5 ml/minuto con la detección a las longitudes de onda de 214 nm y 280 nm. Las muestras del anticuerpo se diluyeron con PBS (pH 7.5) a una concentración de ~1 mg/ml. El volumen de la inyección fue de 10 µl. Se utilizó la mezcla estándar para filtración en gel (Bio-Rad, No. de Catálogo 151-1901) para calibrar la columna antes de la prueba.

Los resultados presentados en la Figura 17 muestran que el anticuerpo BCD085 es estable bajo estrés térmico: el contenido del agregado fue menor que 5%.

Ejemplo 13

Estudio farmacocinético del anticuerpo anti-IL-17A monoclonal BCD085 después de la administración subcutánea de una sola dosis a monos

Un anticuerpo anti-IL-17A monoclonal BCD085 se administró a macacos rhesus (*Macaca mulatta*) como una sola inyección subcutánea en una dosis de 40 mg/kg. En los intervalos de tiempo especificados (0.5, 1, 3, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 96, 120, 168, 264, 336, 432, 504, 672, 840 y 1008 horas después de la administración), las muestras de la sangre del animal se seleccionaron y se obtuvo el suero mediante el procedimiento estándar. Los niveles en suero del anticuerpo BCD085 se evaluaron mediante ELISA en IL-17A humana inmovilizada (R&D Systems), en donde el anticuerpo unido se detectó utilizando anticuerpos policlonales de cabra contra el fragmento Fc de la IgG humana (Pierce-ThermoScientific).

Los resultados obtenidos del ensayo de la concentración en suero del anticuerpo monoclonal anti-IL-17A después de una administración subcutánea de una sola dosis a monos, se muestra en la Figura 18. Se muestra que BCD085 exhibe un efecto a largo plazo significativo, es decir, circula en la sangre durante un largo tiempo. Después de una administración subcutánea de una sola dosis, la concentración máxima del anticuerpo monoclonal anti-Il-17A en el suero del animal se observó en 72-168 horas, con este nivel que permanece durante 400 horas, y sólo entonces se reduce muy lentamente, por lo tanto, incluso después de 1000 horas, la concentración de BCD085 era significativamente

mayor que la línea basal. Los parámetros PK estimados de BCD085 después de una administración subcutánea de una sola dosis a monos, se listan en la Tabla 2. Puede observarse que la depuración (Cl) del anticuerpo anti-IL-17A monoclonal de la invención es de 0.25 ± 0.08 ml/h/kg, que asegura su circulación en la sangre a largo plazo (más de 42 días). El tiempo de residencia medio y la vida media de eliminación del anticuerpo monoclonal anti-IL-17A fueron de 946 ± 374 horas y de 632 ± 253 horas, respectivamente.

Tabla 2. Parámetros farmacocinéticos principales para el anticuerpo anti-IL17 monoclonal reclamado después de una administración subcutánea de una sola dosis de 40 mg/kg a monos.

Cmax (µg/ml)	Tmax (h)	$AUC_{(0-1008)}$ (h* µg)/ml	Cl (ml/h/kg)	MRT (h)	T1/2 (h)	Kel (h^{-1})
353 ± 164 (344-840)	144 ± 48 (72-168)	146 221 ± 19 439 (117 938 - 162 285)	0.25 ± 0.08 (0.14-0.34)	946 ± 374 (528-1274)	632 ± 253 (344-840)	0.00126 ± 0.00056 (0.0008-0.002)

Ejemplo 14

Composición farmacéutica que comprende los anticuerpos de la invención

Concentración de anti-IL-17 (BCD085)	10-50 mg/ml
Amortiguador de citrato 10 mM	q.s. pH 6.0-7.0
Cloruro de sodio	50-150 mM
Sacarosa, trehalosa	0.3-0.5%

Agua para inyección q.s. 1 ml.

Ejemplo 15

Equipos que contienen una composición farmacéutica del anticuerpo

Los equipos que comprenden la composición farmacéutica que contiene el anticuerpo anti-IL-17 se producen mediante el sellado estéril de la composición farmacéutica obtenida de acuerdo con el Ejemplo 14, en ampollas o jeringas de 1 ml, que a continuación se etiquetan y empacan en recipientes de plástico o cartón.

Un reciente con la ampolla, también comprende un inserto del paquete.

REIVINDICACIONES:

1. Un anticuerpo monoclonal aislado que se une de manera específica a la IL-17A humana, o un fragmento del mismo que contiene las regiones variables de las cadenas pesada (V_H) y ligera (V_L), en donde el anticuerpo o el fragmento del mismo comprende:

a) el dominio variable de la cadena pesada (V_H) que comprende 3 regiones hipervariables HCDR1, HCDR2 y HCDR3, en donde

HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1:

F-T-F-S-X31-X32-X33-X34 - X35 (numeración de acuerdo con el índice Kabat), en donde

X31 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende N, D, K, L, P o T;

X32 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende Y y F;

X33 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende A, G, N, S, T o V;

X34 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende M e I;

X35 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende S, G, N o T;

HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2:

X50 -I - X52- X52a - X52b- X53-G-X55-X56-X57-X58, en donde

X50 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende R, G, I, L, M y S;

X52 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende D y E;

X52a es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende G y M;

X52b es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende G, L, R y V;

X53 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende I y L;

X55 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende S, T, L, R y W;

X56 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende S, T, S y Y;

X57 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende S,T, L, R y W;

X58 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende Y, T, L y K;

HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3:

C-A- X94-X95- Y- X97-X98-X99-X100-X100a, en donde

X94 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende R, V, A e I;

X95 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende N, E, L, S, T y V;

X97 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende Y, F y V;

X98 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende G y S;

X99 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende M, A, F, L, P y Y;

X100 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende Y, F, H, I, S y W;

X100a es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende Y, A, I, N, R, S y V;

b) El dominio variable de la cadena ligera (V_L) comprende 3 regiones hipervariables LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde

LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4:

T-G-T-S-X28-X29-X30-X31-X32-X33-X34-X35, en donde

X28 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende E, N y R;

X29 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende D, S y T;

X30 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende V, L y R;

X31 es un aminoácido seleccionado del grupo que

comprende G y V;

X32 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende F, Y, L, S, T y V;

X33 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende G, L y V;

X34 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende N, S, P y R;

X35 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende Y, W, A y L;

LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5:

X50-X51-X52-X53-R-P-S, en donde

X50 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende R, E y L,

X51 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende V, S y L,

X52 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende N y G;

X53es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende T, I, K, L, R y W;

LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6:

C-X89-X90-X91-X92-X93-X94-X95-X95a-X95b, en donde

X89 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende S y A;

X90 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende S, G y T;

X91 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende Y, F, A e I;

X92 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende K y R;

X93 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende A y S;

X94 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende G y F;

X95 es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende G y H;

X95a es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende T;

X95b es un aminoácido seleccionado del grupo que comprende Y, I, L y W.

2. El anticuerpo monoclonal aislado según la reivindicación 1, o un fragmento del mismo, que contiene los dominios variables de las cadenas pesada (VH) y ligera (VL), en donde el anticuerpo o fragmento del mismo comprende:

la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de F-T-F-S-N-Y-A-M-S (SEQ ID NO: 7);

la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de R-I-E-G-G-I-S-S-T-Y (SEQ ID NO: 8);

la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de

C-A-V-N-Y-Y-G-M-Y-Y (SEQ ID NO: 9);

la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de T-G-T-S-E-D-V-G-F-G-N-Y (SEQ ID NO: 10);

la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de R-V-N-T-R-P-S (SEQ ID NO: 11)

la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de C-S-S-Y-K-A-G-G-T-Y (SEQ ID NO: 12).

3. Un anticuerpo monoclonal aislado o fragmento del mismo, que se une de manera específica a la IL-17A humana, y que comprende los dominios variables de las cadenas pesada (VH) y ligera (VL), en donde el anticuerpo o fragmento activo del mismo comprende al menos un dominio variable, que incluye:

a) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13.

b) un dominio variable de la cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14.

4. Un anticuerpo monoclonal aislado o fragmento del mismo, que se une de manera específica a la IL-17A humana, y que comprende los dominios variables de las cadenas pesada (VH) y ligera (VL), en donde los dominios variables comprenden la secuencia de aminoácidos al menos 90% idénticas a las secuencias según la reivindicación 3.

5. Un anticuerpo monoclonal aislado o fragmento del mismo, que se une de manera específica a la IL-17A humana, y que comprende los dominios variables de las cadenas pesada (VH) y ligera (VL), en donde los dominios variables comprenden la secuencia de aminoácidos al menos 95% idénticas a las secuencias según la reivindicación 3.

6. Un anticuerpo monoclonal aislado o fragmento del mismo, que se une de manera específica a la IL-17A humana, y que comprende los dominios variables de las cadenas pesada (VH) y ligera (VL), en donde los dominios variables comprenden la secuencia de aminoácidos al menos 99% idénticas a las secuencias según la reivindicación 3.

7. Un fragmento de anticuerpo que comprende los dominios variables según las reivindicaciones 1-6, en donde el fragmento se selecciona de F(ab')2, F(ab)2, Fab' y Fab.

8. Un fragmento de anticuerpo que comprende los dominios variables según las reivindicaciones 1-6, en donde el fragmento se selecciona de Fv y scFv.

9. Un anticuerpo aislado o fragmento del mismo según las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo es un anticuerpo humanizado o un anticuerpo humano.

10. Un anticuerpo aislado según las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo es una IgG1, o IgG2, o IgG3, o IgG4, o IgA o IgD, o IgY.

11. Un anticuerpo aislado según las

reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo tiene una afinidad de unión a la IL-17A humana caracterizada con una $K_D \leq 10^{-10}$ M.

12. Un anticuerpo aislado según las reivindicaciones 1-6, en donde la constante de asociación cinética kon(1/Ms) para la IL-17A humana es al menos 10^5 1/Msegundo o más.

13. Un anticuerpo aislado según las reivindicaciones 1-6, en donde la constante de disociación cinética dis(1/s) para la IL-17A humana es de al menos más de 10^{-5} 1/segundo y menor.

14. Un anticuerpo aislado según las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo inhibe la actividad de la IL-17A humana por no menos que el 50%.

15. Un anticuerpo aislado según las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo se produce por células de mamífero, levaduras o bacterias.

16. Un anticuerpo aislado según las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo contiene modificaciones M252Y/S254T/T256E (sustitución de aminoácidos) adicionales en la región Fc.

17. Un anticuerpo aislado según las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo contiene una modificación N434W adicional en la región Fc.

18. Un anticuerpo aislado según las

reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo contiene una modificación N434A adicional en la región Fc.

19. Un anticuerpo aislado según las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo contiene una modificación N434F adicional en la región Fc.

20. Un anticuerpo aislado según las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo contiene modificaciones H433K/N434F/Y436H adicionales en la región Fc.

21. Un anticuerpo aislado según las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo contiene modificaciones H433K/N434F/Y436H+M252Y/S254T/T256E adicionales en la región Fc.

22. Un anticuerpo aislado según las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo contiene modificaciones T307A/E380A/N434A adicionales en la región Fc.

23. Un anticuerpo aislado según las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo contiene modificaciones T250Q/M428L adicionales en la región Fc.

24. Un anticuerpo aislado según las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo está caracterizado por la secuencia completa de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 15.

25. Un anticuerpo aislado según las

reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo está caracterizado por la secuencia completa de la cadena ligera de la SEQ ID NO: 16.

26. Un fragmento Fab de un anticuerpo según las reivindicaciones 1-6, producido por células de mamífero, levaduras o bacterias.

27. Un fragmento Fab' de un anticuerpo según las reivindicaciones 1-6, producido por células de mamífero, levaduras o bacterias.

28. Un fragmento Fv (fragmento variable) de un anticuerpo según las reivindicaciones 1-6, producido por células de mamífero, levaduras o bacterias.

29. Un fragmento F(ab')2 de un anticuerpo según las reivindicaciones 1-6, producido por células de mamífero, levaduras o bacterias.

30. Un fragmento F(ab)2 de un anticuerpo según las reivindicaciones 1-6, producido por células de mamífero, levaduras o bacterias.

31. Un fragmento scFv (un fragmento Fv de una sola cadena) de un anticuerpo según las reivindicaciones 1-6, producido por células de mamífero, levaduras o bacterias.

32. Un fragmento de anticuerpo según las reivindicaciones 26-31, en donde el fragmento comprende cualquier modificación química que mejore las propiedades farmacocinéticas del fragmento original.

33. Un constructo de ADN que codifica un anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y 9-25, o un fragmento de anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 26-31.

34. Un vector de expresión que comprende uno o varios ADN (constructos de ADN, secuencias de ADN), que codifican un anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y 9-25 o un fragmento de anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 26-31.

35. Una línea celular que comprende un vector según la reivindicación 34 para la expresión de un anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y 9-25, o un fragmento de anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 26-31.

36. Un método para la producción de un anticuerpo monoclonal según las reivindicaciones 1-6 y 9-25, o un fragmento de anticuerpo según las reivindicaciones 26-31, en donde se cultivan las células hospederas según la reivindicación 35 en un medio de cultivo bajo las condiciones adecuadas para obtener el anticuerpo o fragmento del mismo, y el aislamiento y purificación adicionales del anticuerpo o fragmento del mismo.

37. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y 9-25, o fragmentos del mismo según las reivindicaciones 26-31,

en combinación con uno o más portadores, vehículos o diluyentes farmacéuticamente adecuados.

38. Una composición farmacéutica según la reivindicación 37, que comprende además ingredientes farmacéuticos activos seleccionados de inhibidores del TNF-α o cualesquier otros anticuerpos anti-IL-17A.

39. Una composición farmacéutica según la reivindicación 37, para utilizarse en la terapia de una enfermedad o trastorno mediado por la IL-17A.

40. Una composición farmacéutica según la reivindicación 39, en donde una enfermedad o trastorno mediado por la IL-17A se selecciona de artritis reumatoide, osteoartritis, artritis crónica juvenil, artritis séptica, artritis de Lyme, artritis soriática, artritis reactiva, espondiloartropatía, lupus sistémico eritematoso, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, enfermedad inflamatoria del intestino, diabetes mellitus dependiente de la insulina, tiroadenitis, asma, trastornos alérgicos, soriasis, dermatitis, esclerosis sistémica, enfermedad de injerto versus hospedero, rechazo del injerto, enfermedad inmune aguda o crónica asociada con injerto de órganos, sarcoidosis, aterosclerosis, coagulación intravascular diseminada, enfermedad de Kawasaki, enfermedad de Graves, síndrome nefrótico, síndrome de fatiga crónica, enfermedad de Wegener, púrpura de Henoch-Schonlein, poliangiitis

microscópica con implicación renal, hepatitis activa crónica, uveítis, choque séptico, síndrome de choque tóxico, síndrome de sepsis, caquexia, infecciones, invasiones, síndrome de deficiencia inmune adquirida, mielitis transversa aguda, corea de Huntington, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, accidente cerebrovascular, cirrosis biliar primaria, anemia hemolítica, malignidades, insuficiencia cardiaca, infarto del miocardio, enfermedad de Addison, síndrome autoinmune poliglandular tipo I y tipo II, síndrome de Schmidt, síndrome de dificultad respiratoria aguda, alopecia, alopecia areata, artropatía seronegativa, artropatía, síndrome de Reiter, artropatía soriática, artropatía asociada con colitis ulcerativa, sinovitis enteropática, artropatía asociada con *Chlamydia*, *Yersinia* y *Salmonella*, espondiloartropatía, enfermedad de ateromatosis/esclerosis coronaria, alergia atópica, enfermedad bullosa autoinmune, pénfigo, pénfigo foliáceo, penfigoide, enfermedades por iga lineal, anemia hemolítica autoinmune, anemia hemolítica positiva de Coombs, anemia perniciosa adquirida, anemia perniciosa juvenil, Encefalomielitis miálgica/síndrome de fatiga crónica, inflamación hepática activa crónica, arteritis craneal gigante, hepatitis esclerosante primaria, hepatitis autoinmune criptogénica, síndrome de deficiencia inmune adquirida (SIDA), enfermedades asociada con el SIDA,

hepatitis B, hepatitis C, inmunodeficiencia variable común (hipogammaglobulinemia variable común), cardiomiopatía dilatada, esterilidad femenina, insuficiencia ovárica, Falla ovárica prematura, fibrosis pulmonar, alveolitis fibrosante criptogénica, patologías intersticiales del pulmón postinflamatorias, neumonitis intersticial, enfermedad del tejido conectivo asociada con enfermedad intersticial del pulmón, enfermedad del tejido conectivo mezclada asociada con enfermedad intersticial del pulmón, escleroderma sistémica asociada con enfermedad intersticial del pulmón, artritis reumatoide asociada con enfermedad intersticial del pulmón, lupus sistémico eritematoso asociado con enfermedad del pulmón, dermatomiositis/polimiositis asociada con enfermedad del pulmón, enfermedad de Sjogren asociada con enfermedad del pulmón, espondilitis anquilosante asociada con enfermedad del pulmón, vasculitis pulmonar difusa, hemosiderosis asociada con enfermedad del pulmón, enfermedad intersticial del pulmón inducida por fármacos, fibrosis, fibrosis inducida por radiación, bronquiolitis obliterante, neumonía eosinofílica crónica, enfermedad del pulmón con infiltración de linfocitos, patologías intersticiales del pulmón postinfecciosas, artritis gotosa, hepatitis autoinmune, hepatitis autoinmune del tipo I (hepatitis autoinmune clásica o lupoide), hepatitis autoinmune del tipo II (asociada con el anticuerpo anti-LKM), hipoglucemia

autoinmune, resistencia a la insulina del tipo B con acantoqueratodermia, hipoparatiroidismo, enfermedad inmune aguda asociada con el injerto, enfermedad inmune crónica asociada con el injerto, osteoartrosis, colangitis esclerosante primaria, soriasis del tipo I, soriasis del tipo II, leucopenia idiopática, neutropenia autoinmune, enfermedades de NOS-riñón, glomerulonefritis, poliangitis renal microscópica, enfermedad de Lyme, lupus eritematoso discoide, esterilidad masculina idiopática del NOS, inmunidad antiesperma, esclerosis múltiple (todos los tipos), oftalmia simpática, hipertensión pulmonar secundaria a la enfermedad del tejido conectivo, síndrome de Goodpasture, manifestaciones pulmonares de la poliarteritis nodosa, fiebre reumática aguda, espondilitis reumatoide, enfermedad de Still, escleroderma sistémica, síndrome de Sjogren, enfermedad de Takayasu/artritis, trombocitopenia autoinmune, trombocitopenia idiopática, trastornos tiroideos autoinmunes, hipertiroidismo, hipotiroidismo autoinmune (enfermedad de Hashimoto), hipotiroidismo autoinmune atrófico, mixedema primario, uveítis pacogénica, vasculitis primaria, vitíligo, enfermedad hepática aguda, enfermedad hepática crónica, cirrosis alcohólica, daño hepático inducido por el alcohol, colestasis, enfermedad hepática idiosincrática, hepatitis inducida por fármacos, esteatohepatitis no alcohólica, alergias y asma, infección

por estreptococos del grupo B (GBS), trastornos mentales (incluyendo depresiones y esquizofrenia), enfermedad mediada por Th1 y Th2, dolor agudo y crónico (varias formas), malignidades tales como cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de estómago, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal, cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer de próstata y malignidades hematopoyéticas (leucemia y linfomas), abetalipoproteinemia, acrocianosis, infecciones e infestaciones agudas y crónicas, leucemia aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, infección bacteriana aguda o crónica, pancreatitis aguda, insuficiencia renal aguda, adenocarcinoma, taquicardias auriculares ectópicas, complejo SIDA-demencia, hepatitis inducida por el alcohol, conjuntivitis alérgica, dermatitis alérgica por contacto, rinitis alérgica, rechazo del aloinjerto, deficiencia de la antitripsina alfa-I, esclerosis amiotrófica lateral, anemia, angina, degeneración de las células de asta anteriores, terapia anti-CD3, síndrome antifosfolípido, reacciones de hipersensibilidad contra los receptores, aneurismas aórticos y periféricos, disección aórtica, hipertensión arterial, esclerosis coronaria, fístula arteriovenosa, ataxia, fibrilación auricular (constante o paroximal), aleteo auricular, bloqueo atrioventricular, linfoma de los linfocitos B, rechazo del injerto óseo, rechazo del transplante de médula ósea (BMT),

bloqueo de la rama izquierda, linfoma de Burkitt, quemaduras, arritmia cardiaca, síndrome del miocardio aturdido, tumor cardiaco, cardiomiopatía, respuesta inflamatoria al bypass, rechazo del injerto de cartílago, degeneración de la corteza cerebral, trastorno cerebelar, taquicardia auricular caótica o multifocal, trastornos inducidos por la quimioterapia, leucemia mielocítica crónica (CML), adicción crónica al alcohol, patologías inflamatorias crónicas, leucemia linfática crónica (CLL), enfermedad pulmonar obstructiva crónica, intoxicación crónica por salicilato, carcinoma rectocólico, insuficiencia cardiaca congestiva, conjuntivitis, dermatitis por contacto, cor pulmonale, enfermedad de la arteria coronaria, Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, sepsis negativa al cultivo, fibrosis quística, trastornos inducidos por la terapia con citocina, encefalopatía de boxer, enfermedad desmielinizante, fiebre hemorrágica por dengue, dermatitis, condiciones dermatológicas, diabetes, diabetes mellitus, enfermedad vascular aterosclerótica relacionada con la diabetes, enfermedad difusa del cuerpo de Lewy, cardiomiopatía dilatada congestiva, enfermedad de los ganglios basales, síndrome de Down en la edad media, trastornos motores inducidos por los bloqueadores de la dopamina del CNS, sensibilidad a los fármacos, eczema, encefalomielitis, endocarditis, endocrinopatía, epiglotiditis, infección viral

por Epstein-Barr, eritralgia, síntomas extrapiramidales y cerebelares, linfohistiocitosis hemofagocítica familiar, rechazo del injerto del timo fetal, ataxia de Friedreich, enfermedad de la arteria periférica, sepsis micótica, flemón gaseoso, úlcera gástrica, glomerulonefritis, cualquier rechazo del injerto de órgano o tejido, sepsis gram negativa, sepsis gram positiva, granulomas debidos a organismos intracelulares, leucemia de las células pilosas, enfermedad de Hallervorden-Spatz, tiroiditis de Hashimoto, fiebre del heno, rechazo del transplante cardiaco, hemocromatosis, hemodiálisis, síndrome urémico hemolítico / púrpura trombocitopénica trombótica, sangrado, hepatitis (A), arritmia de las ramas, infecciones por VIH/neuropatías por VIH, enfermedad de Hodgkin, trastornos motores hiperquinéticos, reacciones de hipersensibilidad, neumonitis asociada con la hipersensibilidad, hipertensión, trastornos motores hipoquinéticos, examen del eje hipotálamo-apófisis-adrenal, enfermedad de Addison idiopática, fibrosis pulmonar idiopática, citotoxicidad mediada por el anticuerpo, astenia, atrofia muscular infantil, inflamación de la aorta, virus de la influenza A, exposición a radiación ionizante, iridociclitis/uveítis/neuritis óptica, trastornos inducidos por isquemia/reperfusión, accidente cerebrovascular isquémico, artritis reumatoide juvenil, atrofia muscular espinal juvenil, sarcoma de Kaposi, rechazo del transplante

renal, legionelosis, leishmaniasis, lepra, daño corticoespinal, lipoedema, rechazo del transplante de hígado, linfedema, paludismo, linfoma maligno, histiocitosis maligna, melanoma maligno, meningitis, meningococcemia, enfermedades metabólicas/idiopáticas, migraña, trastornos mitocondriales de sistemas múltiples, enfermedad mezclada del tejido conectivo, gammapatía monoclonal, mieloma múltiple, degeneración de sistemas múltiples (Mencel Dejerine-Thomas Shi-Drager y Machado-Joseph), miastenia grave, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium tuberculosis* intracelular, síndrome mielodisplásico, infarto del miocardio, enfermedad isquémica del miocardio, cáncer nasofaríngeo, enfermedad crónica neonatal del pulmón, nefritis, trastornos nefróticos, neurodegenerativos, atrofia muscular neurogénica I, fiebre neutropénica, linfomas no de Hodgkin, oclusión de la rama aórtica abdominal, enfermedad oclusiva arterial, tratamiento con OKT3®, orquitis/epididimitis, orquitis/operaciones de inversión de la vasectomía, organomegalía, osteoporosis, rechazo del injerto pancreático, carcinoma pancreático, enfermedad paraneoplásica/hipercalcemia relacionada con el tumor, rechazo del injerto paratiroideo, enfermedad inflamatoria pélvica, rinitis perenne, enfermedad pericárdica, enfermedad de aterosclerosis periférica (aterosclerótica), enfermedad vascular periférica, peritonitis, anemia perniciosa,

Neumonía por *Pneumocystis carinii*, síndrome de POEMS (polineuropatía, órganomegalia, endocrinopatía, trastorno monoclonal proliferativo del plasma y cambios de la piel), síndrome postperfusión, síndrome de cabezal de bomba, síndrome postinfarto postcardiotomía, preeclampsia, parálisis supranuclear progresiva, hipertensión pulmonar primaria, terapia con radiación, fenómeno y enfermedad de Raynaud, enfermedad de Raynoud, enfermedad de Refsum, taquicardia QRS estrecha regular, hipertensión vascular renal, lesión por reperfusión, cardiomiopatía restrictiva, sarcoma, enfermedad de escleroderma, corea senil, Demencia con cuerpos de Lewy, artritis seronegativa, choque, enfermedad de las células falciformes, rechazo del aloinjerto de piel, cambios de la piel, rechazo del injerto de intestino delgado, tumores sólidos, arritmias específicas, ataxia espinal, degradaciones espinocerebelares, miositis por estreptococos, daño de la estructura cerebelar, panencefalitis esclerosante subaguda, síncope, sífilis cardiovascular, anafilaxis sistémica, un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica extensa, artritis reumatoide juvenil de inicio sistémico, ALL de los linfocitos T o FAB, telangiectasia, trombosis obliterante, trombocitopenia, toxicidad, injertos, trauma/sangrado, reacciones de hipersensibilidad del tipo III, reacciones de hipersensibilidad del tipo IV, angina inestable, uremia,

sepsis urinaria, urticaria, enfermedad de la válvula cardiaca, venas varicosas, vasculitis, enfermedades venosas, trombosis venosa, fibrilación ventricular, infecciones virales y micóticas, encefalitis vital / meningitis aséptica, síndrome hemofagocítico vital, síndrome de Wernicke-Korsakoff, enfermedad de Wilson, rechazo del heteroinjerto para cualquier órgano o tejido, síndrome coronario agudo, polineuritis idiopática aguda, neuropatía radicular desmielinizante inflamatoria aguda, isquemia aguda, enfermedad de Stills de inicio en la adultez, alopecia areata, anafilaxis, síndrome del anticuerpo antifosfolípido, anemia aplásica, esclerosis coronaria, eczema atópico, dermatitis atópica, dermatitis autoinmune, trastorno autoinmune asociado con infección por estreptococos, enteropatía autoinmune, pérdida del oído autoinmune, síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS), miocarditis autoinmune, falla ovárica prematura autoinmune, blefaritis, bronquiectasia, penfigoide bulloso, enfermedad cardiovascular, síndrome antifosfolípido catastrófico, enfermedad celiaca, espondilosis cervical, isquemia crónica, penfigoide cicatrizal, síndrome aislado clínicamente (cis) con el riesgo de esclerosis múltiple, conjuntivitis, trastornos mentales de inicio en la niñez, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), dacriocistitis, dermatomiositis, retinopatía diabética, diabetes mellitus,

disco herniado, prolapso del disco intervertebral, anemia hemolítica inmune inducida por fármacos, endocarditis, endometriosis, entoftalmia, episcleritis, eritema multiforme, eritema multiforme severo, penfigoide gestacional, síndrome de Guillain-Barre (GBS), fiebre del heno, síndrome de Hughes, enfermedad de Parkinson idiopática, neumonía intersticial idiopática, alergia mediada por la IgE, anemia hemolítica autoinmune, miositis del cuerpo de inclusión, enfermedad inflamatoria ocular infecciosa, enfermedad desmielinizante inflamatoria, enfermedad cardiaca inflamatoria, enfermedad renal inflamatoria, fibrosis pulmonar idiopática/neumonía intersticial usual, iritis, кератита (sic), queratitis, queratoconjuntivitis seca, enfermedad de Kussmaul o Enfermedad de Kussmaul-Meier, parálisis de Landry, histiocitosis de las células de Langerhans, piel marmoleada, degeneración macular, poliangiitis microscópica, enfermedad de Bechterew, enfermedad de la neuronas motoras, penfigoide de las mucosas, falla orgánica múltiple, miastenia grave, síndrome de displasia de la médula espinal, miocarditis, trastornos de la raíz nerviosa, neuropatía, hepatitis que no es A, que no es B, neuritis óptica, osteolisis, cáncer de ovario, JIA oligoarticular, enfermedad oclusiva de la arteria periférica, enfermedad vascular periférica, enfermedad de la arteria periférica (PAD), flebitis,

poliarteritis nodosa, policondritis, polimialgia reumática, poliosis, artritis idiopática juvenil poliarticular, deficiencia endocrina múltiple, polimiositis, polimialgia reumática (PMR), síndrome postbomba, parkinsonismo primario, cáncer de próstata y rectal y malignidades hematopoyéticas (leucemia y linfoma), prostatitis, aplasia de las células rojas puras, insuficiencia adrenal primaria, neuromielitis óptica recurrente, restenosis, enfermedad cardiaca reumática, SAPHO (sinovitis, acné, pustulosis, hiperostosis y osteítis), esclerodermia, amiloidosis secundaria, pulmón con choque, escleritis, isquias, insuficiencia adrenal secundaria, enfermedad del tejido conectivo asociada con el silicio, enfermedad de Sneddon-Wilkinson, espondilitis anquilosante, síndrome de Stevens-Johnson, síndrome de respuesta de inflamación sistémica, arteritis craneal, rinitis por Toxoplasma, necrólisis epidérmica tóxica, mielitis transversa, TRAPS (síndrome periódico asociado con el receptor del factor de necrosis del tumor), reacciones alérgicas del tipo I, diabetes del tipo II, urticaria, neumonía intersticial usual, vasculitis, conjuntivitis primaveral, rinitis viral, síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada (síndrome VKH), degeneración macular húmeda, curación de las heridas, y artropatía asociada con Yersinia o Salmonella.

41. Un método para el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por la IL-17A, en donde se

administra una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo aislado según las reivindicaciones 1-6 y 9-25 o un fragmento del mismo, según las reivindicaciones 26-31 a un paciente que necesita tal tratamiento.

42. Un método para el tratamiento según la reivindicación 41, en donde una enfermedad o trastorno mediado por la IL-17A se selecciona de artritis reumatoide, osteoartritis, artritis crónica juvenil, artritis séptica, artritis de Lyme, artritis soriática, artritis reactiva, espondiloartropatía, lupus sistémico eritematoso, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, enfermedad inflamatoria del intestino, diabetes mellitus dependiente de la insulina, tiroadenitis, asma, trastornos alérgicos, soriasis, dermatitis, esclerosis sistémica, enfermedad de injerto versus hospedero, rechazo del injerto, enfermedad inmune aguda o crónica asociada con injerto de órganos, sarcoidosis, aterosclerosis, coagulación intravascular diseminada, enfermedad de Kawasaki, enfermedad de Graves, síndrome nefrótico, síndrome de fatiga crónica, enfermedad de Wegener, púrpura de Henoch-Schonlein, poliangiitis microscópica con implicación renal, hepatitis activa crónica, uveítis, choque séptico, síndrome de choque tóxico, síndrome de sepsis, caquexia, infecciones, invasiones, síndrome de deficiencia inmune adquirida, mielitis transversa aguda, corea de Huntington, enfermedad de

Parkinson, enfermedad de Alzheimer, accidente cerebrovascular, cirrosis biliar primaria, anemia hemolítica, malignidades, insuficiencia cardiaca, infarto del miocardio, enfermedad de Addison, síndrome autoinmune poliglandular tipo I y tipo II, síndrome de Schmidt, síndrome de dificultad respiratoria aguda, alopecia, alopecia areata, artropatía seronegativa, artropatía, síndrome de Reiter, artropatía soriática, artropatía asociada con colitis ulcerativa, sinovitis enteropática, artropatía asociada con *Chlamydia*, *Yersinia* y *Salmonella*, espondiloartropatía, enfermedad de ateromatosis/esclerosis coronaria, alergia atópica, enfermedad bullosa autoinmune, pénfigo, pénfigo foliáceo, penfigoide, enfermedades por iga lineal, anemia hemolítica autoinmune, anemia hemolítica positiva de Coombs, anemia perniciosa adquirida, anemia perniciosa juvenil, Encefalomielitis miálgica/síndrome de fatiga crónica, inflamación hepática activa crónica, arteritis craneal gigante, hepatitis esclerosante primaria, hepatitis autoinmune criptogénica, síndrome de deficiencia inmune adquirida (SIDA), enfermedades asociada con el SIDA, hepatitis B, hepatitis C, inmunodeficiencia variable común (hipogammaglobulinemia variable común), cardiomiopatía dilatada, esterilidad femenina, insuficiencia ovárica, falla ovárica prematura, fibrosis pulmonar, alveolitis fibrosante criptogénica, patologías intersticiales del pulmón

postinflamatorias, neumonitis intersticial, enfermedad del tejido conectivo asociada con enfermedad intersticial del pulmón, enfermedad del tejido conectivo mezclada asociada con enfermedad intersticial del pulmón, esclerodermia sistémica asociada con enfermedad intersticial del pulmón, artritis reumatoide asociada con enfermedad intersticial del pulmón, lupus sistémico eritematoso asociado con enfermedad del pulmón, dermatomiositis/polimiositis asociada con enfermedad del pulmón, enfermedad de Sjogren asociada con enfermedad del pulmón, espondilitis anquilosante asociada con enfermedad del pulmón, vasculitis pulmonar difusa, hemosiderosis asociada con enfermedad del pulmón, enfermedad intersticial del pulmón inducida por fármacos, fibrosis, fibrosis inducida por radiación, bronquiolitis obliterante, neumonía eosinofílica crónica, enfermedad del pulmón con infiltración de linfocitos, patologías intersticiales del pulmón postinfecciosas, artritis gotosa, hepatitis autoinmune, hepatitis autoinmune del tipo I (hepatitis autoinmune clásica o lupoide), hepatitis autoinmune del tipo II (asociada con el anticuerpo anti-LKM), hipoglucemia autoinmune, resistencia a la insulina del tipo B con acantoqueratodermia, hipoparatiroidismo, enfermedad inmune aguda asociada con el injerto, enfermedad inmune crónica asociada con el injerto, osteoartrosis, colangitis esclerosante primaria, soriasis del tipo I, soriasis del

tipo II, leucopenia idiopática, neutropenia autoinmune, enfermedades de NOS-riñón, glomerulonefritis, poliangitis renal microscópica, enfermedad de Lyme, lupus eritematoso discoide, esterilidad masculina idiopática del NOS, inmunidad antiesperma, esclerosis múltiple (todos los tipos), oftalmia simpática, hipertensión pulmonar secundaria a la enfermedad del tejido conectivo, síndrome de Goodpasture, manifestaciones pulmonares de la poliarteritis nodosa, fiebre reumática aguda, espondilitis reumatoide, enfermedad de Still, escleroderma sistémica, síndrome de Sjogren, enfermedad de Takayasu/artritis, trombocitopenia autoinmune, trombocitopenia idiopática, trastornos tiroideos autoinmunes, hipertiroidismo, hipotiroidismo autoinmune (enfermedad de Hashimoto), hipotiroidismo autoinmune atrófico, mixedema primario, uveítis pacogénica, vasculitis primaria, vitíligo, enfermedad hepática aguda, enfermedad hepática crónica, cirrosis alcohólica, daño hepático inducido por el alcohol, colestasis, enfermedad hepática idiosincrática, hepatitis inducida por fármacos, esteatohepatitis no alcohólica, alergias y asma, infección por estreptococos del grupo B (GBS), trastornos mentales (incluyendo depresiones y esquizofrenia), enfermedad mediada por Th1 y Th2, dolor agudo y crónico (varias formas), malignidades tales como cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de estómago, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal,

cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer de próstata y malignidades hematopoyéticas (leucemia y linfomas), abetalipoproteinemia, acrocianosis, infecciones e infestaciones agudas y crónicas, leucemia aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, infección bacteriana aguda o crónica, pancreatitis aguda, insuficiencia renal aguda, adenocarcinoma, taquicardias auriculares ectópicas, complejo SIDA-demencia, hepatitis inducida por el alcohol, conjuntivitis alérgica, dermatitis alérgica por contacto, rinitis alérgica, rechazo del aloinjerto, deficiencia de la antitripsina alfa-I, esclerosis amiotrófica lateral, anemia, angina, degeneración de las células de asta anteriores, terapia anti-CD3, síndrome antifosfolípido, reacciones de hipersensibilidad contra los receptores, aneurismas aórticos y periféricos, disección aórtica, hipertensión arterial, esclerosis coronaria, fístula arteriovenosa, ataxia, fibrilación auricular (constante o paroximal), aleteo auricular, bloqueo atrioventricular, linfoma de los linfocitos B, rechazo del injerto óseo, rechazo del transplante de médula ósea (BMT), bloqueo de la rama izquierda, linfoma de Burkitt, quemaduras, arritmia cardiaca, síndrome del miocardio aturdido, tumor cardiaco, cardiomiopatía, respuesta inflamatoria al bypass, rechazo del injerto de cartílago, degeneración de la corteza cerebral, trastorno cerebelar,

taquicardia auricular caótica o multifocal, trastornos inducidos por la quimioterapia, leucemia mielocítica crónica (CML), adicción crónica al alcohol, patologías inflamatorias crónicas, leucemia linfática crónica (CLL), enfermedad pulmonar obstructiva crónica, intoxicación crónica por salicilato, carcinoma rectocólico, insuficiencia cardiaca congestiva, conjuntivitis, dermatitis por contacto, cor pulmonale, enfermedad de la arteria coronaria, Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, sepsis negativa al cultivo, fibrosis quística, trastornos inducidos por la terapia con citocina, encefalopatía de boxer, enfermedad desmielinizante, fiebre hemorrágica por dengue, dermatitis, condiciones dermatológicas, diabetes, diabetes mellitus, enfermedad vascular aterosclerótica relacionada con la diabetes, enfermedad difusa del cuerpo de Lewy, cardiomiopatía dilatada congestiva, enfermedad de los ganglios basales, síndrome de Down en la edad media, trastornos motores inducidos por los bloqueadores de la dopamina del CNS, sensibilidad a los fármacos, eczema, encefalomielitis, endocarditis, endocrinopatía, epiglotiditis, infección viral por Epstein-Barr, eritralgia, síntomas extrapiramidales y cerebelares, linfohistiocitosis hemofagocítica familiar, rechazo del injerto del timo fetal, ataxia de Friedreich, enfermedad de la arteria periférica, sepsis micótica, flemón gaseoso, úlcera gástrica, glomerulonefritis, cualquier

rechazo del injerto de órgano o tejido, sepsis gram negativa, sepsis gram positiva, granulomas debidos a organismos intracelulares, leucemia de las células pilosas, enfermedad de Hallervorden-Spatz, tiroiditis de Hashimoto, fiebre del heno, rechazo del transplante cardiaco, hemocromatosis, hemodiálisis, síndrome urémico hemolítico / púrpura trombocitopénica trombótica, sangrado, hepatitis (A), arritmia de las ramas, infecciones por VIH/neuropatías por VIH, enfermedad de Hodgkin, trastornos motores hiperquinéticos, reacciones de hipersensibilidad, neumonitis asociada con la hipersensibilidad, hipertensión, trastornos motores hipoquinéticos, examen del eje hipotálamo-apófisis-adrenal, enfermedad de Addison idiopática, fibrosis pulmonar idiopática, citotoxicidad mediada por el anticuerpo, astenia, atrofia muscular infantil, inflamación de la aorta, virus de la influenza A, exposición a radiación ionizante, iridociclitis/uveítis/neuritis óptica, trastornos inducidos por isquemia/reperfusión, accidente cerebrovascular isquémico, artritis reumatoide juvenil, atrofia muscular espinal juvenil, sarcoma de Kaposi, rechazo del transplante renal, legionelosis, leishmaniasis, lepra, daño corticoespinal, lipoedema, rechazo del transplante de hígado, linfedema, paludismo, linfoma maligno, histiocitosis maligna, melanoma maligno, meningitis, meningococcemia, enfermedades metabólicas/idiopáticas, migraña, trastornos

mitocondriales de sistemas múltiples, enfermedad mezclada del tejido conectivo, gammapatía monoclonal, mieloma múltiple, degeneración de sistemas múltiples (Mencel Dejerine-Thomas Shi-Drager y Machado-Joseph), miastenia grave, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium tuberculosis* intracelular, síndrome mielodisplásico, infarto del miocardio, enfermedad isquémica del miocardio, cáncer nasofaríngeo, enfermedad crónica neonatal del pulmón, nefritis, trastornos nefróticos, neurodegenerativos, atrofia muscular neurogénica I, fiebre neutropénica, linfomas no de Hodgkin, oclusión de la rama aórtica abdominal, enfermedad oclusiva arterial, tratamiento con OKT3®, orquitis/epididimitis, orquitis/operaciones de inversión de la vasectomía, organomegalia, osteoporosis, rechazo del injerto pancreático, carcinoma pancreático, enfermedad paraneoplásica/hipercalcemia relacionada con el tumor, rechazo del injerto paratiroideo, enfermedad inflamatoria pélvica, rinitis perenne, enfermedad pericárdica, enfermedad de aterosclerosis periférica (aterosclerótica), enfermedad vascular periférica, peritonitis, anemia perniciosa, Neumonía por *pneumocystis carinii*, síndrome de POEMS (polineuropatía, órganomegalia, endocrinopatía, trastorno monoclonal proliferativo del plasma y cambios de la piel), síndrome postperfusión, síndrome de cabezal de bomba, síndrome postinfarto postcardiotomía, preeclampsia,

parálisis supranuclear progresiva, hipertensión pulmonar primaria, terapia con radiación, fenómeno y enfermedad de Raynaud, enfermedad de Raynoud, enfermedad de Refsum, taquicardia QRS estrecha regular, hipertensión vascular renal, lesión por reperfusión, cardiomiopatía restrictiva, sarcoma, enfermedad de escleroderma, corea senil, Demencia con cuerpos de Lewy, artritis seronegativa, choque, enfermedad de las células falciformes, rechazo del aloinjerto de piel, cambios de la piel, rechazo del injerto de intestino delgado, tumores sólidos, arritmias específicas, ataxia espinal, degradaciones espinocerebelares, miositis por estreptococos, daño de la estructura cerebelar, panencefalitis esclerosante subaguda, síncope, sífilis cardiovascular, anafilaxis sistémica, un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica extensa, artritis reumatoide juvenil de inicio sistémico, ALL de los linfocitos T o FAB, telangiectasia, trombosis obliterante, trombocitopenia, toxicidad, injertos, trauma/sangrado, reacciones de hipersensibilidad del tipo III, reacciones de hipersensibilidad del tipo IV, angina inestable, uremia, sepsis urinaria, urticaria, enfermedad de la válvula cardiaca, venas varicosas, vasculitis, enfermedades venosas, trombosis venosa, fibrilación ventricular, infecciones virales y micóticas, encefalitis vital / meningitis aséptica, síndrome hemofagocítico vital, síndrome de

Wernicke-Korsakoff, enfermedad de Wilson, rechazo del heteroinjerto para cualquier órgano o tejido, síndrome coronario agudo, polineuritis idiopática aguda, neuropatía radicular desmielinizante inflamatoria aguda, isquemia aguda, enfermedad de Stills de inicio en la adultez, alopecia areata, anafilaxis, síndrome del anticuerpo antifosfolípido, anemia aplásica, esclerosis coronaria, eczema atópico, dermatitis atópica, dermatitis autoinmune, trastorno autoinmune asociado con infección por estreptococos, enteropatía autoinmune, pérdida del oído autoinmune, síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS), miocarditis autoinmune, falla ovárica prematura autoinmune, blefaritis, bronquiectasia, penfigoide bulloso, enfermedad cardiovascular, síndrome antifosfolípido catastrófico, enfermedad celiaca, espondilosis cervical, isquemia crónica, penfigoide cicatrizal, síndrome aislado clínicamente (cis) con el riesgo de esclerosis múltiple, conjuntivitis, trastornos mentales de inicio en la niñez, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), dacriocistitis, dermatomiositis, retinopatía diabética, diabetes mellitus, disco herniado, prolapso del disco intervertebral, anemia hemolítica inmune inducida por fármacos, endocarditis, endometriosis, entoftalmia, episcleritis, eritema multiforme, eritema multiforme severo, penfigoide gestacional, síndrome de Guillain-Barre (GBS), fiebre del

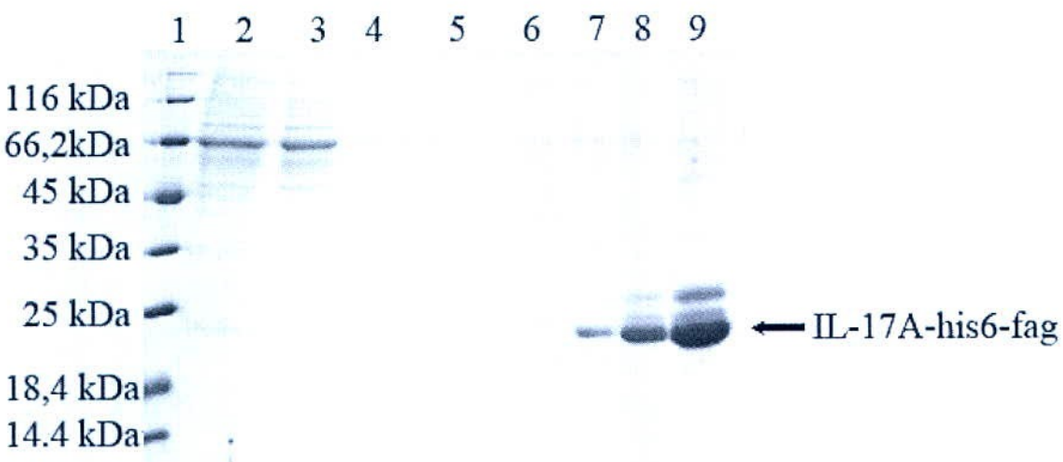
heno, síndrome de Hughes, enfermedad de Parkinson idiopática, neumonía intersticial idiopática, alergia mediada por la IgE, anemia hemolítica autoinmune, miositis del cuerpo de inclusión, enfermedad inflamatoria ocular infecciosa, enfermedad desmielinizante inflamatoria, enfermedad cardiaca inflamatoria, enfermedad renal inflamatoria, fibrosis pulmonar idiopática/neumonía intersticial usual, iritis, кератита (sic), queratitis, queratoconjuntivitis seca, enfermedad de Kussmaul o Enfermedad de Kussmaul-Meier, parálisis de Landry, histiocitosis de las células de Langerhans, piel marmoleada, degeneración macular, poliangiitis microscópica, enfermedad de Bechterew, enfermedad de la neuronas motoras, penfigoide de las mucosas, falla orgánica múltiple, miastenia grave, síndrome de displasia de la médula espinal, miocarditis, trastornos de la raíz nerviosa, neuropatía, hepatitis que no es A, que no es B, neuritis óptica, osteolisis, cáncer de ovario, JIA oligoarticular, enfermedad oclusiva de la arteria periférica, enfermedad vascular periférica, enfermedad de la arteria periférica (PAD), flebitis, poliarteritis nodosa, policondritis, polimialgia reumática, poliosis, artritis idiopática juvenil poliarticular, deficiencia endocrina múltiple, polimiositis, polimialgia reumática (PMR), síndrome postbomba, parkinsonismo primario, cáncer de próstata y rectal y malignidades hematopoyéticas

(leucemia y linfoma), prostatitis, aplasia de las células rojas puras, insuficiencia adrenal primaria, neuromielitis óptica recurrente, restenosis, enfermedad cardiaca reumática, SAPHO (sinovitis, acné, pustulosis, hiperostosis y osteítis), esclerodermia, amiloidosis secundaria, pulmón con choque, escleritis, isquias, insuficiencia adrenal secundaria, enfermedad del tejido conectivo asociada con el silicio, enfermedad de Sneddon-Wilkinson, espondilitis anquilosante, síndrome de Stevens-Johnson, síndrome de respuesta de inflamación sistémica, arteritis craneal, rinitis por Toxoplasma, necrólisis epidérmica tóxica, mielitis transversa, TRAPS (síndrome periódico asociado con el receptor del factor de necrosis del tumor), reacciones alérgicas del tipo I, diabetes del tipo II, urticaria, neumonía intersticial usual, vasculitis, conjuntivitis primaveral, rinitis viral, síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada (síndrome VKH), degeneración macular húmeda, curación de las heridas, y artropatía asociada con *Yersinia* o *Salmonella*.

43. Un método para el tratamiento según la reivindicación 41, que comprende además la administración de inhibidores del TNF-α u otros anticuerpos anti-IL-17A.

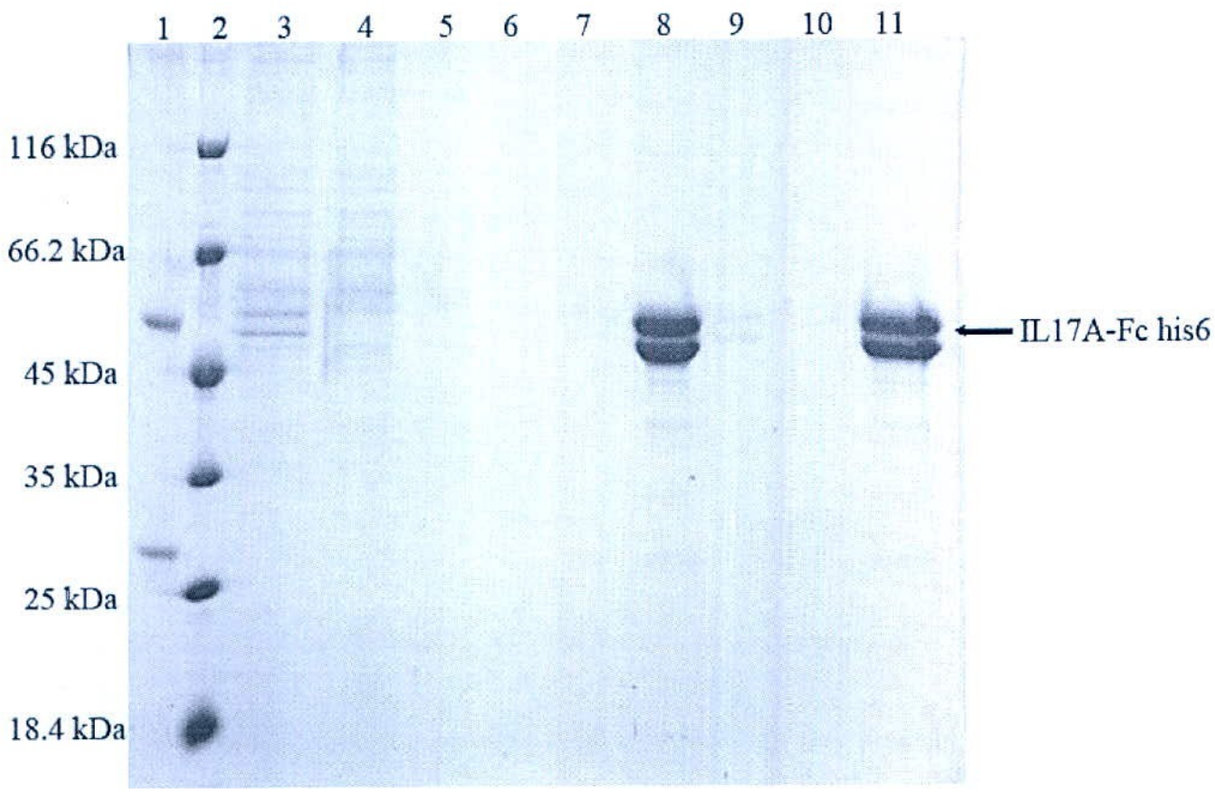
RESUMEN DE LA INVENCIÓN

La presente invención se relaciona con el campo de la medicina, y de manera específica, con el campo de los anticuerpos monoclonales contra la IL-17 humana. De manera más específica, la invención se relaciona con anticuerpos monoclonales/antagonistas de la IL-17A, que se unen con alta afinidad a un epitopo de la IL-17, en donde los anticuerpos contienen sustituciones de aminoácidos en las regiones hipervariables de las cadenas pesada y ligera. Los anticuerpos de acuerdo con la invención pueden ser anticuerpos quiméricos, humanizados o humanos, o fragmentos que se unen al antígeno de los mismos, y pueden utilizarse como un agente medicinal para el tratamiento de trastornos autoinmunes e inflamatorios y trastornos de la proliferación y desarrollo celular. La invención también se relaciona con métodos para producir los anticuerpos.



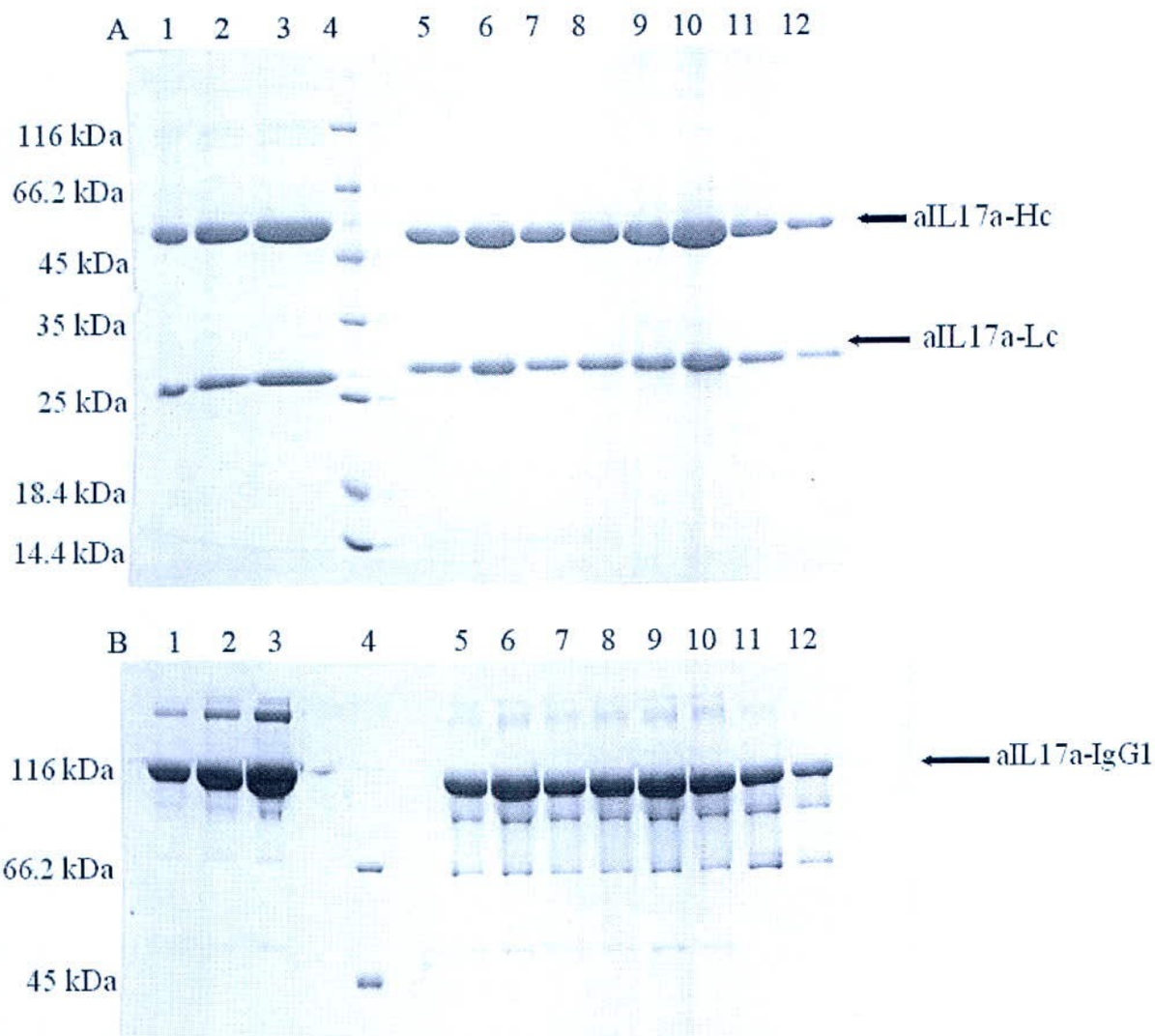
1. 910 0.25 µg + β-ME
2. 910 0,5 µg + β-ME
3. 910 1 µg + β-ME
4. ---
5. Marcador no teñido con la enzima
6. Medio antes de la aplicación en IMACBioRad
7. Medio después de la aplicación en IMACBioRad
8. Lavado 1
9. Lavado 2
10. Lavado 3
11. Elución con 2.5 µL
12. Elución con 5 µL
13. Elución con 10 µL

FIG. 1



1) 910 IgG murina 1 µg
2) Marcador no teñido con la enzima
3) Medio antes de la aplicación de 10 µL
4) Medio después de la aplicación de 10 µL
5) Lavado con 10 µL de PBS-Tween
6) Lavado con 10 µL de PBS
7) Elución de los primeros 10 µL
8) Elución con 12 ml 10 µL
9) Elución con 12 ml 10 µL
10) Lavado del sorbente pH 2,5 10 µL
11) IL-17-Fc despué s de la diálisis 10 µL

FIG. 2



1. AIN457 2.5 µg	7. IgG aIL17 A1CL v1A2C 5 µL
2. AIN457 5 µg	8. IgG aIL17 A1CL v7C2P 5 µL
3. AIN457 0 µg	9. IgG aIL17 A1CL v1D2C 5 µL
4. Marcador PW no teñid o con la enzima	10. IgG aIL17 A1CL v2D2C 5 µL
5. IgG aIL17 A1CL v4C2P 5 µL	11. IgG aIL17 A1CL v4D2P 5 µL
6. IgG aIL17 A1CL v3E2P 5 µL	12. IgG aIL17 A1CL control

FIG. 3

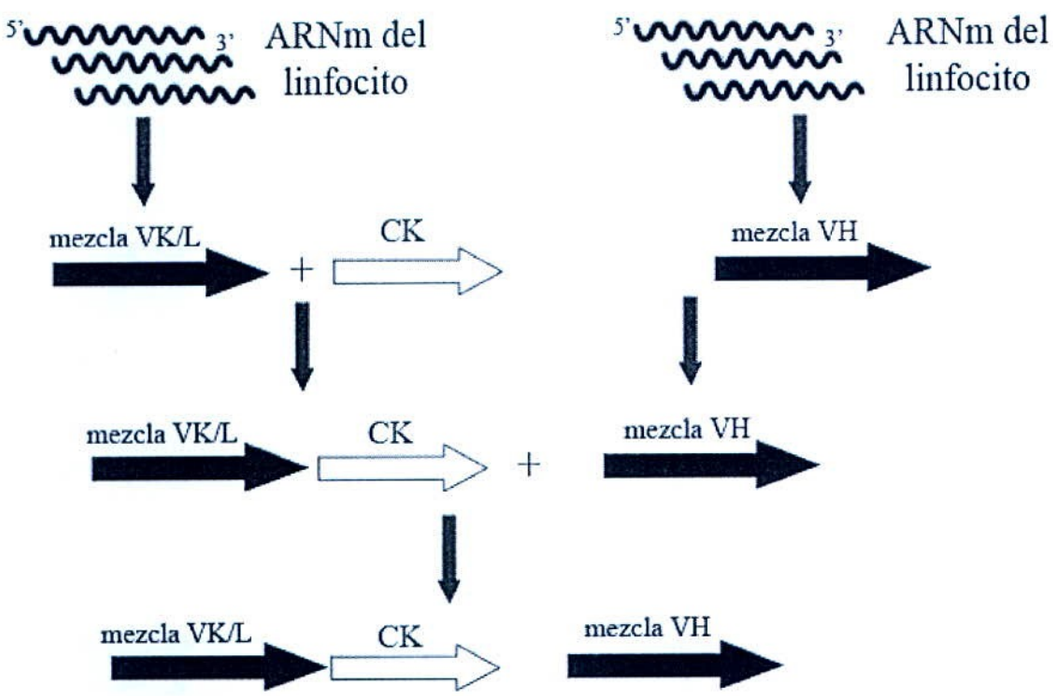

5'
3'
ARNm del linfocito
5'
3'
ARNm del linfocito
mezcla VK/L
+
CK
mezcla VH
mezcla VK/L
CK
+
mezcla VH
mezcla VK/L
CK
mezcla VH

FIG. 4

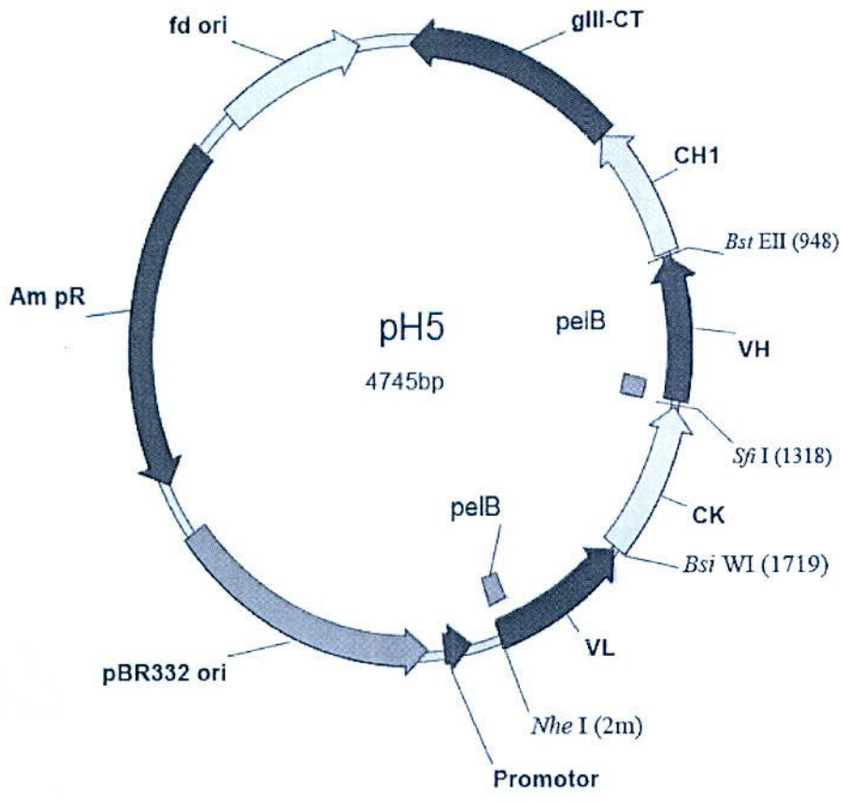

fd ori
gIII-CT
CH1
Bst EII (948)
VH
Sfi I (1318)
CK
Bsi WI (1719)
VL
Nhe I (2m)
Promotor
pBR332 ori
Am pR
pelB
pH5
4745bp
pelB

FIG. 5

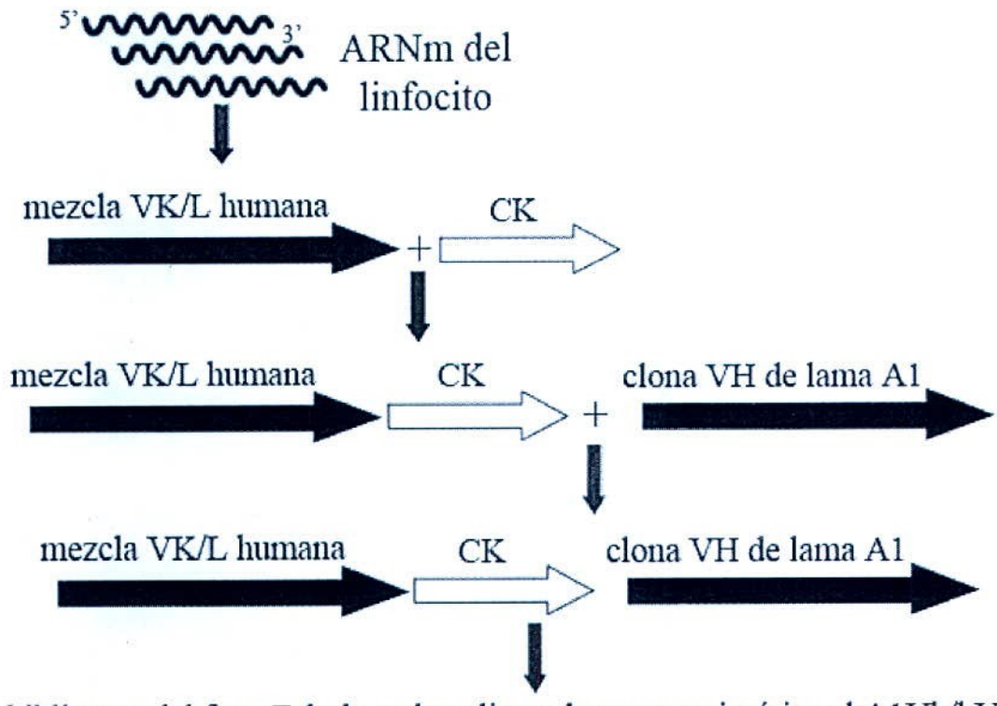

5'
3'
ARNm del linfocito
mezcla VK/L humana
CK
mezcla VK/L humana
CK
clona VH de lama A1
mezcla VK/L humana
CK
clona VH de lama A1
biblioteca del fago Fab de cadena ligera humana quimérica chA1Vh/hVL A1

FIG. 6

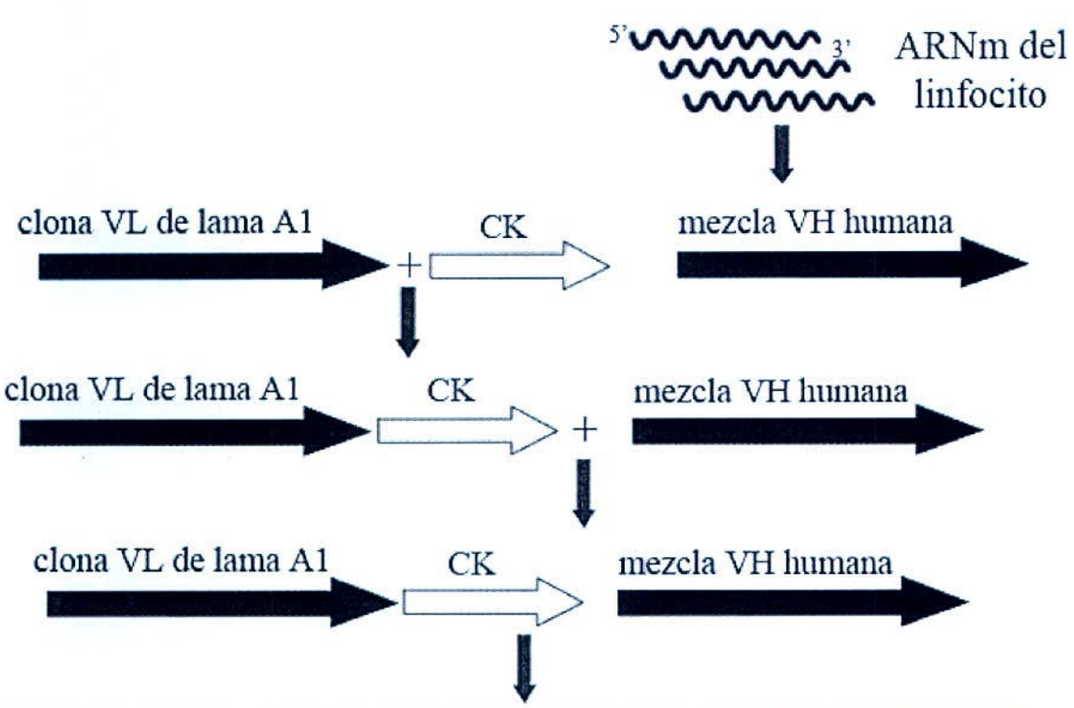

5'
3'
ARNm del linfocito
clona VL de lama A1
CK
mezcla VH humana
clona VL de lama A1
CK
mezcla VH humana
clona VL de lama A1
CK
mezcla VH humana
biblioteca del fago Fab de cadena pesada humana quimérica chA1Vh/hVL

FIG. 7

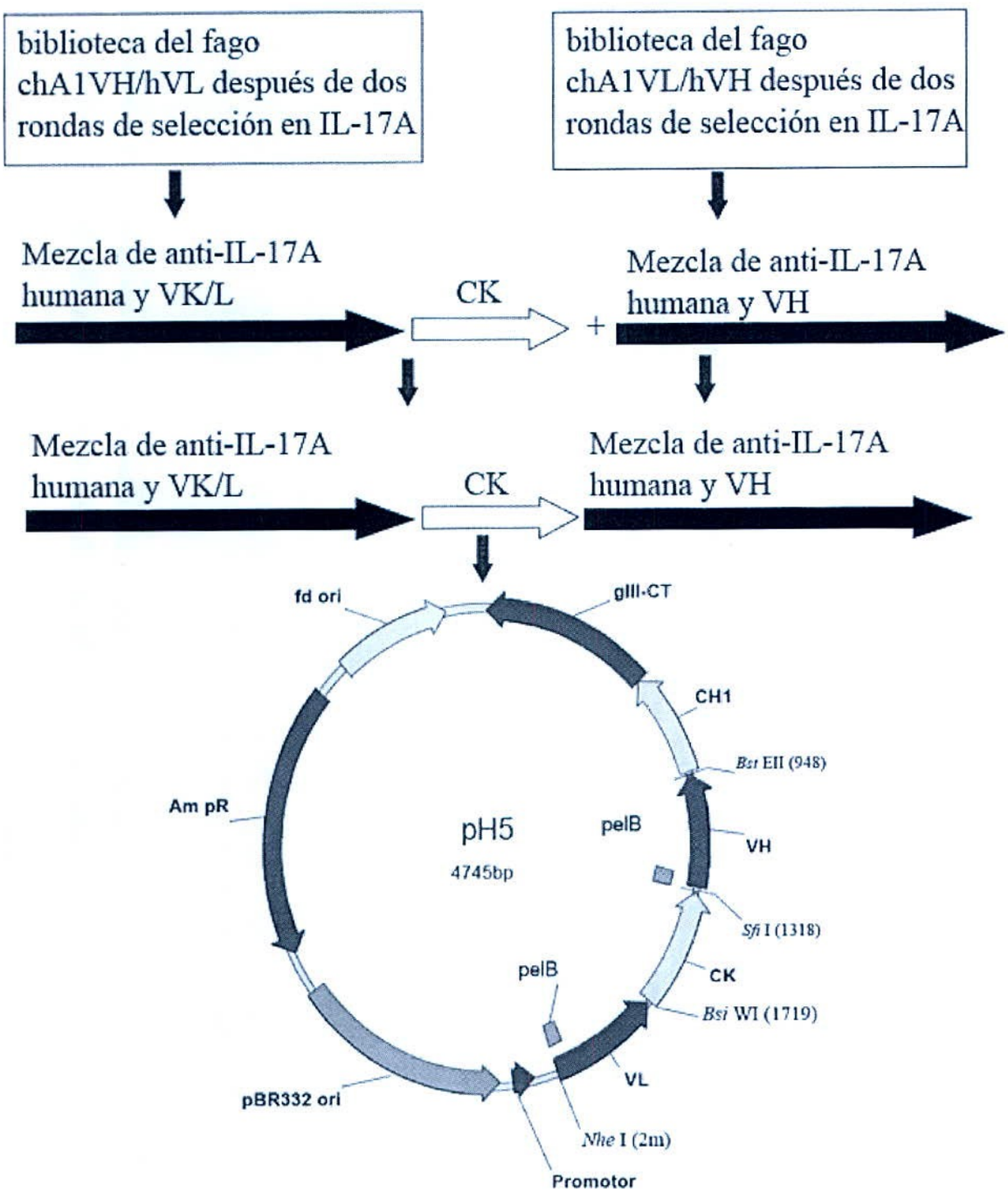

biblioteca del fago chA1VH/hVL después de dos rondas de selección en IL-17A
biblioteca del fago chA1VL/hVH después de dos rondas de selección en IL-17A
Mezcla de anti-IL-17A humana y VK/L
CK
+
Mezcla de anti-IL-17A humana y VH
Mezcla de anti-IL-17A humana y VK/L
CK
Mezcla de anti-IL-17A humana y VH
fd ori
gIII-CT
CH1
Bst EII (948)
VH
Sfi I (1318)
CK
Bsi WI (1719)
VL
Nhe I (2m)
Promotor
pBR332 ori
Am pR
pH5
4745bp
pelB
pelB

FIG. 8

Selección con ELISA de Fab específico contra la IL-17 humana

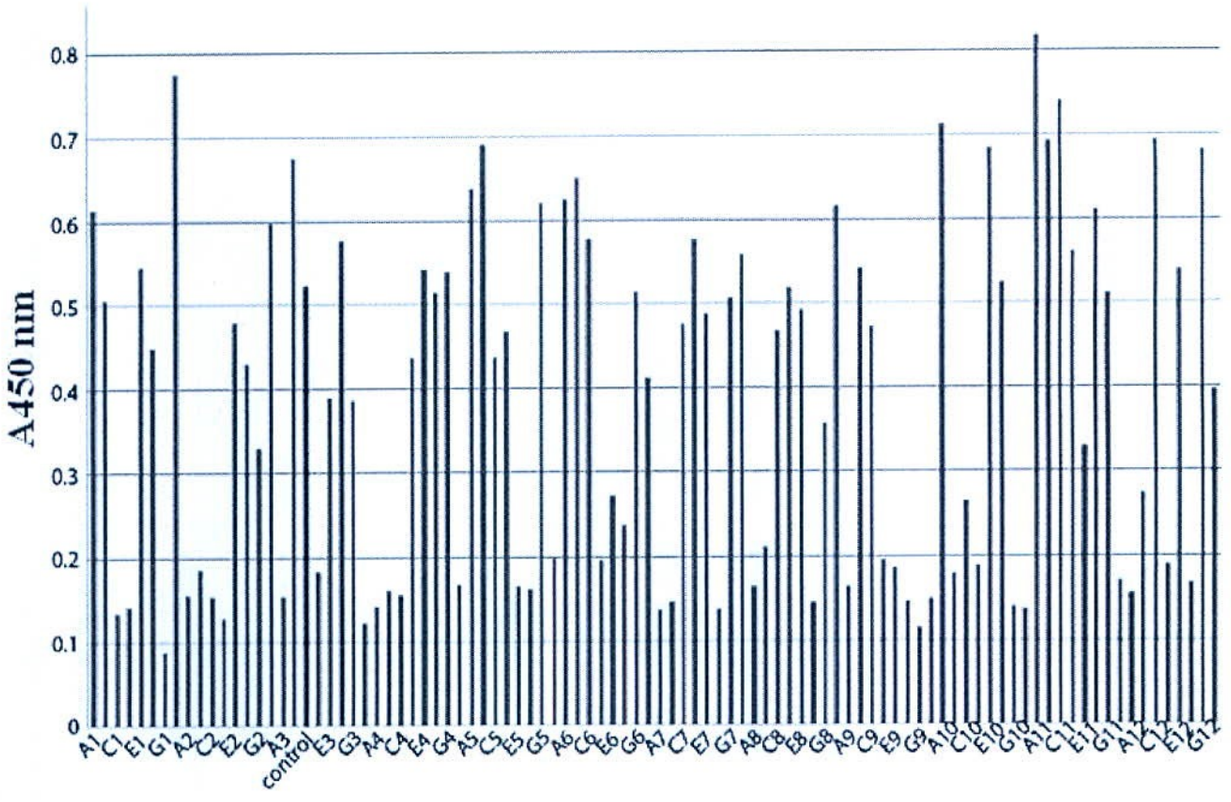


FIG. 9

Selección competitiva con ELISA de los candidatos de Fab que bloquean la interacción de IL-17A/Il-17R

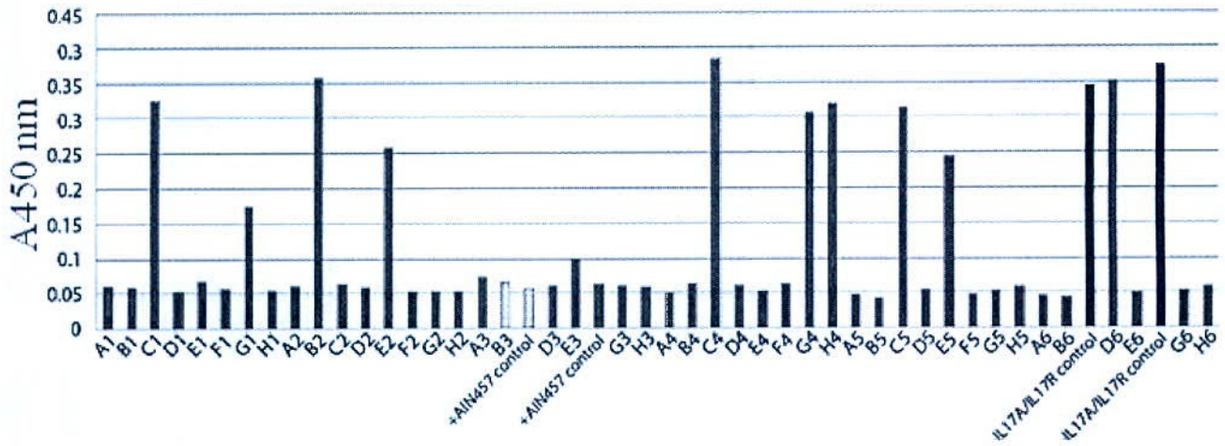


FIG. 10

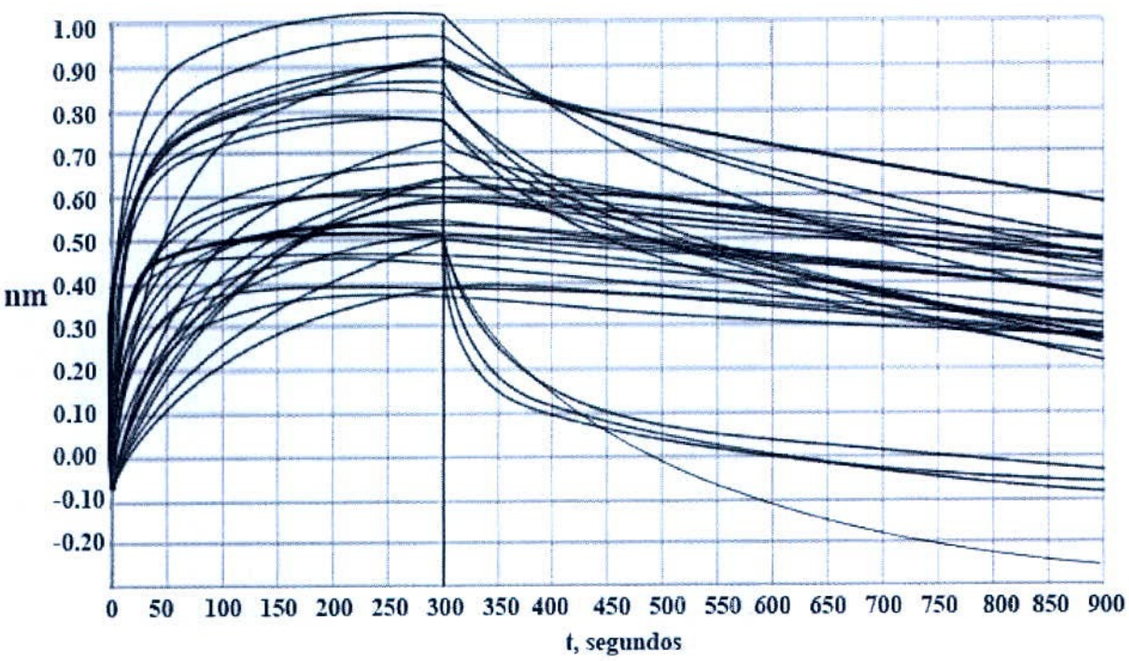
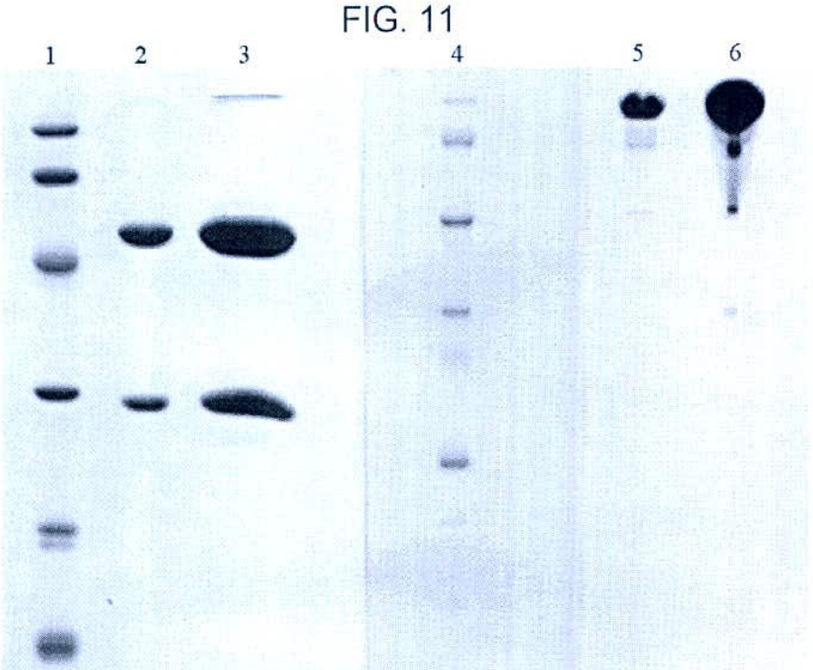


FIG. 11



1) Marcador no teñido con la enzima
2) BCD085, 10 µg +βME
3) BCD085, 40 µg + βME
4) Marcador no teñido con la enzima
5) BCD085, 10 µg – βME
6) BCD085, 40 µg – βME

FIG. 12

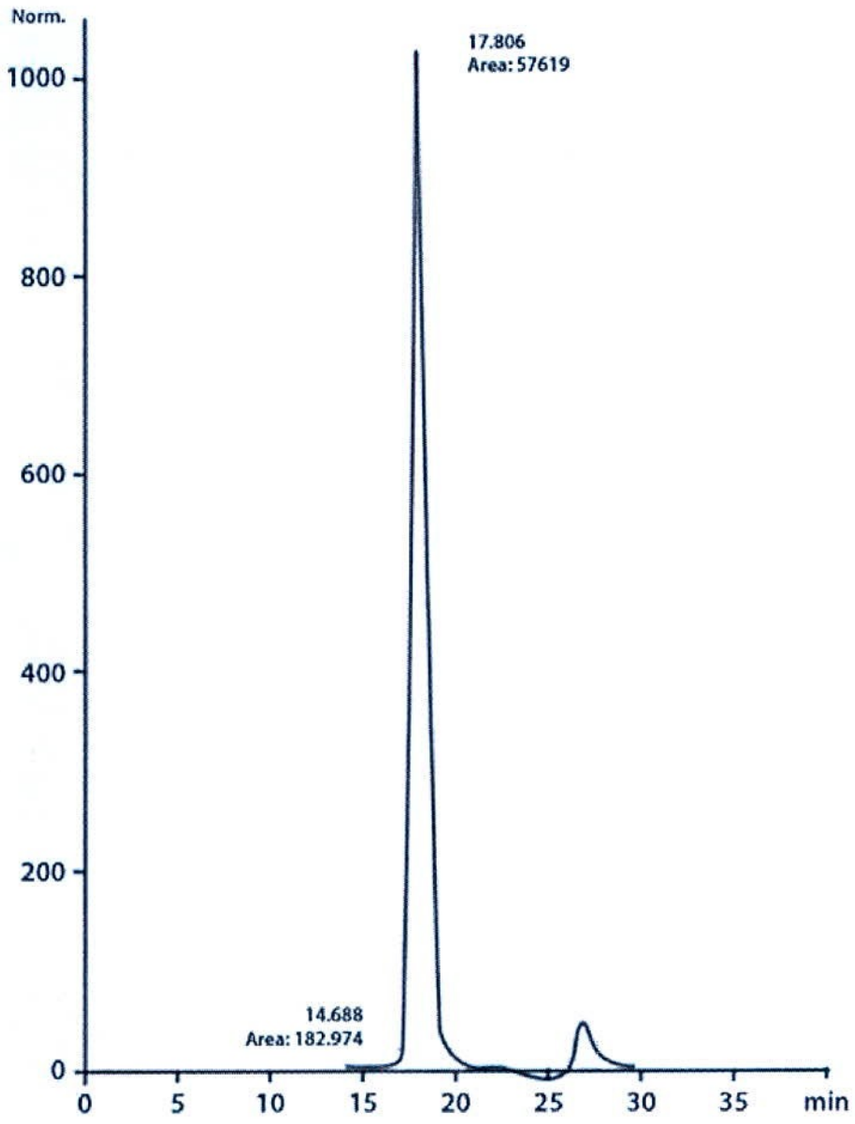

Norm.
1000
800
600
400
200
0
17.806
Area: 57619
14.688
Area: 182.974
0
5
10
15
20
25
30
35
min

FIG. 13

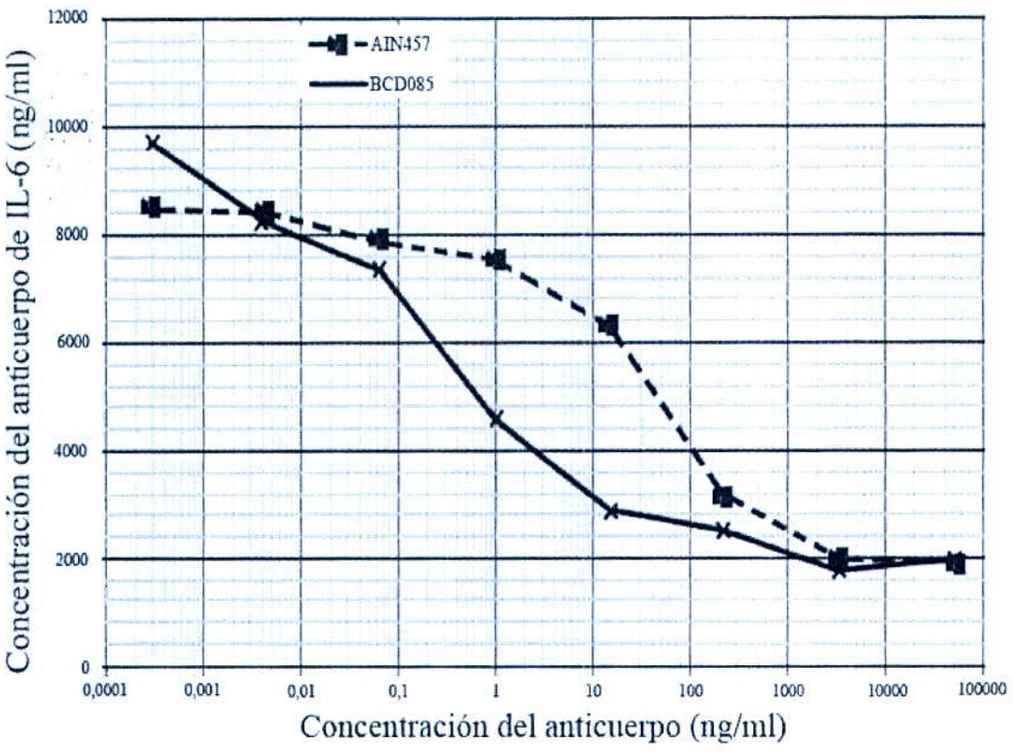
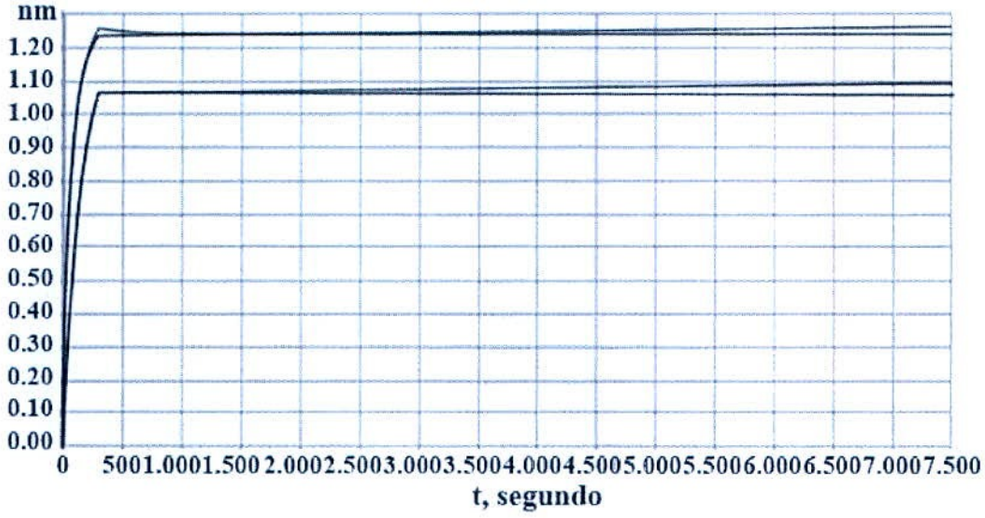
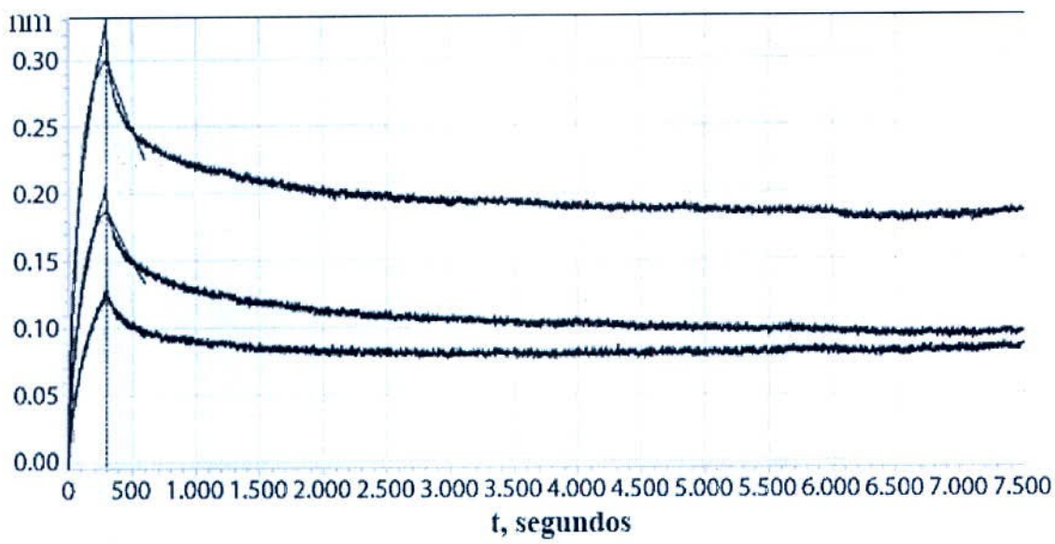


FIG. 14



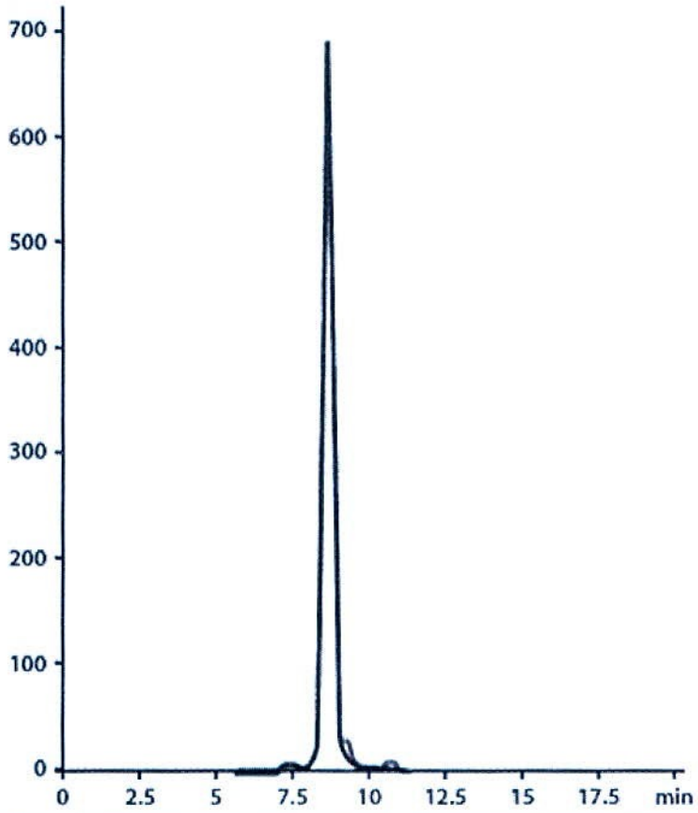
Concentraciuón (nm)	Señal	KD (M)	kon(1/Mc)	Desviación de la Kon	kdis(1/c)	Desviación de la Kdis	Desviación cuadrada absoluta R^2
68,6	1,2507	<1.0E-12	2,20E+05	6,80E+02	<1.0E-07		0,973327
34,3	1,0595	<1.0E-12	2,64E+05	1,77E+03	<1.0E-07		0,937248

FIG. 15



Concentración (nm)	Señal	KD (M)	kon(1/Mc)	Desviación de la Kon	kdis(1/c)	Desviación de la Kdis	Desviación cuadrada absoluta R^2
68,7	0,3246	5,97E-09	1,61E+05	2,73E+03	9,60E-04	2,35E-05	0,956946
34,4	0,2032	4,15E-09	2,71E+05	4,78E+03	1,13E-03	2,31E-05	0,964905
17,2	0,127	2,22E-09	4,06E+05	6,23E+03	9,01E-04	1,71E-05	0,983707

FIG. 16



№	Tiempo	Área	Altura	Ancho	% del Área	Simetría	MMt de la muestra
1	7.371	147.8	4.4	0.4004	1.062	0.809	274666,2
2	8.656	13246	642.7	0.3165	95.157	0.876	149758,8
3	9.216	402.6	24.6	0.2272	2.892	0.283	52237,09
4	10.663	123.8	7	0.2528	0.889	0.867	33009,53

FIG. 17

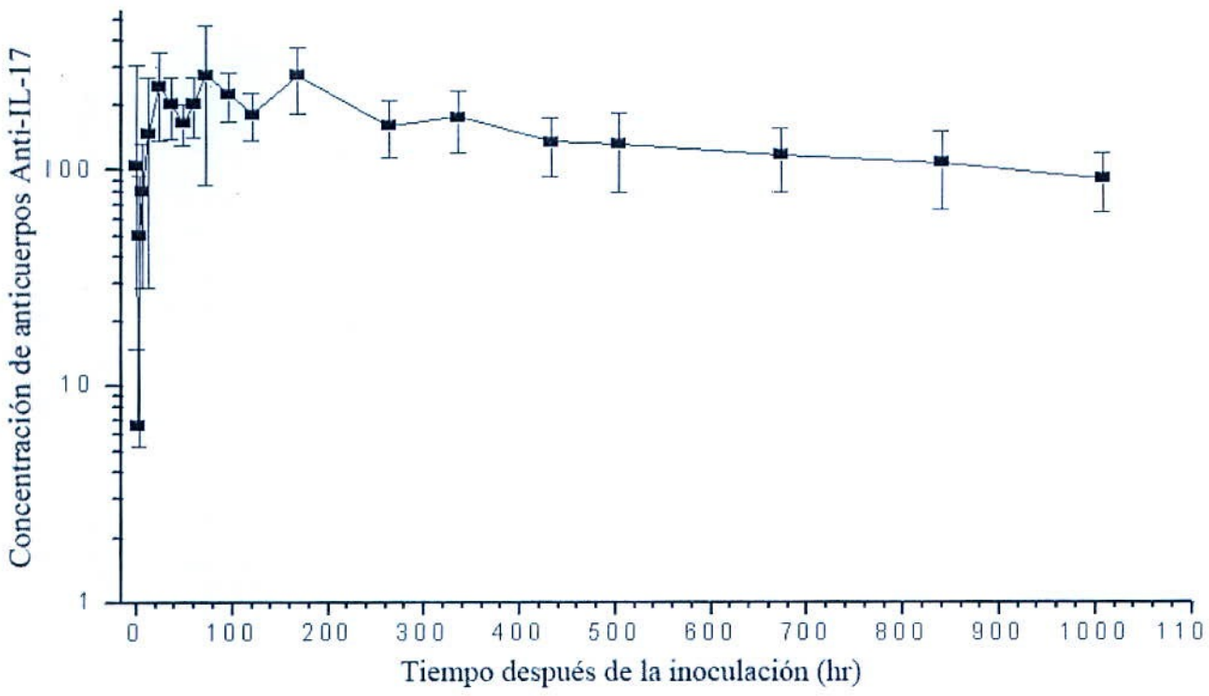

Concentración de anticuerpos Anti-IL-17
100
10
1
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
110
Tiempo después de la inoculación (hr)

FIG. 18

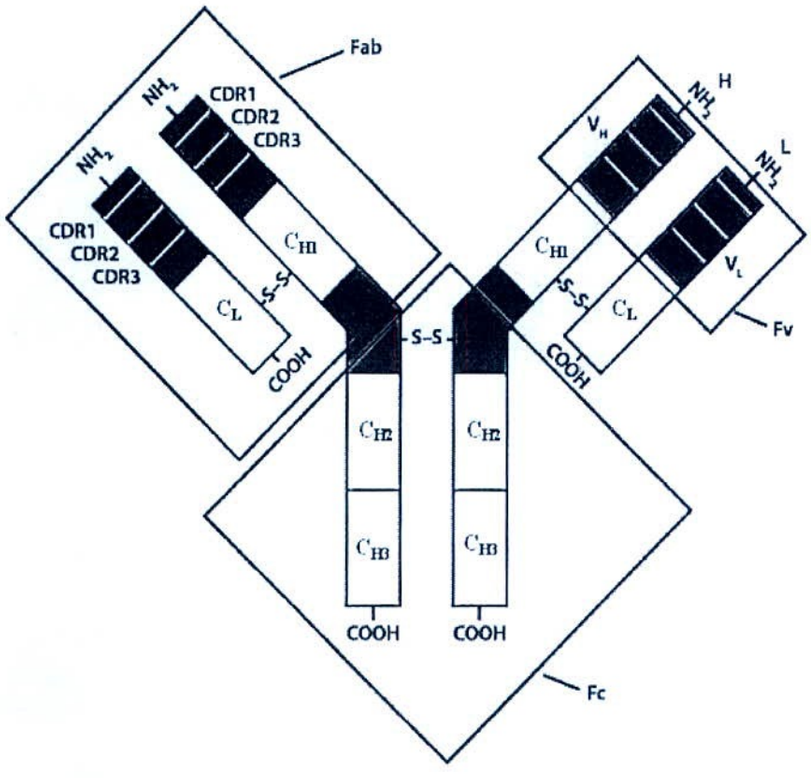

Fab
NH2
CDR1
CDR2
CDR3
CH1
CL
S-S
COOH
VH
H
L
VL
Fv
CH2
CH3
Fc

FIG. 7

Secuencias

Los aminoácidos están indicados utilizando el código de letras común. Cuando se indican varias posibles sustituciones de aminoácidos, se supone que sólo se selecciona un aminoácido de las posibles sustituciones listadas.

SEQ ID NO 1

F-T-F-S-X31-X32-X33-X34 - X35

X31 - N, D, K, L, P o T;

X32 - Y y F;

X33 - A, G, N, S, T o V;

X34 - M e I;

X35 - S, G, N o T;

SEQ ID NO 2

X50 -I - X52- X52a- X52b- X53-G-X55-X56-X57-X58

X50 - R, G, I, L, M y S;

X52 - D y E;

X52a - G y M;

X52b - G, L, R y V;

X53 - I y L;

X55 - S, T, L, R y W;

X56 - S, T, S y Y;

X57 - S, T, L, R y W;

X58 - Y, T, L y K;

SEQ ID NO: 3

C-A- X94-X95- Y- X97-X98-X99-X100-X100a,

X94 - R, V, A e I;

X95 - N, E, L, S, T y V;

X97 - Y, F y V;

X98 - G y S;

X99 - M, A, F, L, P y Y;

X100 - Y, F, H, I, S y W;

X100a - Y, A, I, N, R, S y V

SEQ ID NO:4:

T-G-T-S-X28-X29-X30-X31-X32-X33-X34-X35,

X28 - E, N y R;

X29 - D, S y T;

X30 - V, L y R;

X31 - G y V;

X32 - F, Y, L, S, T y V;

X33 - G, L y V;

X34 - N, S, P y R;

X35 - Y, W, A y L

SEQ ID NO: 5

X50-X51-X52-X53-R-P-S

X50 - R, E y L,

X51 - V, S y L,

X52 - N y G;

X53 - T, I, K, L, R y W;

SEQ ID NO: 6

C-X89-X90-X91-X92-X93-X94-X95-X95a-X95b,

X89 - S y A;

X90 - S, G y T;

X91 - Y, F, A e I;

X92 - K y R;

X93 - A y S;

X94 - G y F;

X95 - G y H;

X95a - T;

X95b - Y, I, L y W.

SEQ ID NO 7: TGTSEDVGFGNYVS

SEQ ID NO 8: RVNTRPS

SEQ ID NO 9: CSSYKAGGTY.

SEQ ID NO 10: T-G-T-S-E-D-V-G-F-G-N-Y

SEQ ID NO 11: R-V-N-T-R-P-S

SEQ ID NO 12: C-S-S-Y-K-A-G-G-T-Y

SEQ ID NO 13

QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAADGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSRIEGGIGSST

YAVDSVKDRFTISRDDAKNTLYLQMSSLKTEDTAVYYCAVNYYGMYYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO 14

QSVLTQPPSVSVAPGKTVTISCTGTSEDVGFGNYVSWYQHLPGTAPKLLIYRVNTRPSG

VPDRFSGSQSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYKAGGTYVFGGGTKLTVLGQ

SEQ ID NO 15

QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAADGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSRIEGGIGSST

YAVDSVKDRFTISRDDAKNTLYLQMSSLKTEDTAVYYCAVNYYGMYYWGQGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
GPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO 16

QSVLTQPPSVSVAPGKTVTISCTGTSEDVGFGNYVSWYQHLPGTAPKLLIYRVNTRPSG
VPDRFSGSQSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYKAGGTYVFGGGTKLTVLGQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYA
ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO TEMATICO

PATENTE DE INVENCION _X_ PCT _X_ MODELO DE UTILIDAD ___ DISEÑO INDUSTRIAL ___

(21) N° de solicitud:
(22) Fecha de solicitud:
(51) Clasificación Internacional :

(71)Solicitante(s) **CLOSED JOINT STOCK COMPANY "BIOCAD"**

(72)Inventor(es): **ULITIN, Andrey Borisovich; EVDOKIMOV, Stanislav Rudolfovich; SOLOVIEV, Valeriy Vladimirovich; CHERNYH, Yulia Sergeevna; GONCHAROVA, Olga Vladimirovna; KORZHAVIN, Dmitriy Valerievich; CHERNOVSKAYA, Tatyana Veniaminovna; IVANOV, Roman Alexeevich; MOROZOV, Dmitriy Valentinovich**

(74) Apoderado: **JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS**

Prioridad	(31) *No. Prioridad*	(32) *Fecha*	(33) *País*
	2014109854	**14/03/2014**	**RU**

(85) Fecha límite inicio fase nacional: **14/10/2016**
(86) Datos relativos a la presentación de la solic. PCT
Fecha de presentación de la solicitud: **27/10/2014**
No. de solicitud **PCT/RU2014/000808**

(87) Publicación internacional:
Fecha: **17/09/2015**
No.Publicación:**WO2015/137843A1**

(54) Titulo: **ANTICUERPOS ANTI-IL-17, UN MÉTODO PARA PRODUCIR Y UTILIZAR LOS MISMOS**

(57) **Resumen:** Anticuerpos monoclonales/antagonistas de la IL-17A, que se unen con alta afinidad a un epitopo de la IL-17, en donde los anticuerpos contienen sustituciones de aminoácidos en las regiones hipervariables de las cadenas pesada y ligera. Los anticuerpos de acuerdo con la invención pueden ser anticuerpos quiméricos, humanizados o humanos, o fragmentos que se unen al antígeno de los mismos, y pueden utilizarse como un agente medicinal para el tratamiento de trastornos autoinmunes. **CONTINUA AL RESPALDO**

e inflamatorios y trastornos de la proliferación y desarrollo celular. La invención también se relaciona con métodos para producir los anticuerpos

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

129

PATENTE DE INVENCION X PCT _X_ MODELO DE UTILIDAD ___ DISEÑO INDUSTRIAL __

(21) N° de solicitud:
(22) Fecha de solicitud:
(51) Clasificación Internacional :

(71) Solicitante (s) **CLOSED JOINT STOCK COMPANY "BIOCAD"**

(72) Inventor(es) **ULITIN, Andrey Borisovich; EVDOKIMOV, Stanislav Rudolfovich; SOLOVIEV, Valeriy Vladimirovich; CHERNYH, Yulia Sergeevna; GONCHAROVA, Olga Vladimirovna; KORZHAVIN, Dmitriy Valerievich; CHERNOVSKAYA, Tatyana Veniaminovna; IVANOV, Roman Alexeevich; MOROZOV, Dmitriy Valentinovich**

(74) Apoderado: **JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS**

(30) Prioridad	(31)	*No. Prioridad*	32)	*Fecha*	(33)	*País*
		2014109854		**14/03/2014**		**RU**

(85) Fecha inicio fase nacional: **14/10/2016**
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT
Fecha de presentación de la solicitud: **27/10/2014**
No. de solicitud **PCT/RU2014/000808**

(87) Publicación internacional
Fecha: **17/09/2015** Fecha (dd/mm/aa)
N° publicación: **WO2015/137843 A1**

(54) Titulo: **ANTICUERPOS ANTI-IL-17, UN MÉTODO PARA PRODUCIR Y UTILIZAR LOS MISMOS**

+24
130

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN
SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCIÓN PCT

(21) N° de solicitud:

22) Fecha de solicitud:

(30) Prioridad	(31)	No. Prioridad	(32)	Fecha	(33)	País
		2014109854		**14/03/2014**		**RU**

(51) Int Cl:

(71)Solicitante(s) **CLOSED JOINT STOCK COMPANY "BIOCAD"**

(72) Inventor(es)
1. **ULITIN, Andrey Borisovich**
2. **EVDOKIMOV, Stanislav Rudolfovich**
3. **SOLOVIEV, Valeriy Vladimirovich**
4. **CHERNYH, Yulia Sergeevna**
5. **GONCHAROVA, Olga Vladimirovna**
6. **KORZHAVIN, Dmitriy Valerievich**
7. **CHERNOVSKAYA, Tatyana Veniaminovna**
8. **IVANOV, Roman Alexeevich**
9. **MOROZOV, Dmitriy Valentinovich**

(74) Apoderado: **JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS**

(85) Fecha limite inicio fase nacional: **14/10/2016**

Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT
Fecha de presentación de la solicitud **27/10/2014**
No. de solicitud: **PCT/RU2014/000808**

(87)Publicación Internacional **17/09/2015** (dd/mm/aa)

N° publicación: **WO2015/137843 A1**

(54) Titulo: **ANTICUERPOS ANTI-IL-17, UN MÉTODO PARA PRODUCIR Y UTILIZAR LOS MISMOS**

Resumen

Anticuerpos monoclonales/antagonistas de la IL-17A, que se unen con alta afinidad a un epitopo de la IL-17, en donde los anticuerpos contienen sustituciones de aminoácidos en las regiones hipervariables de las cadenas pesada y ligera. Los anticuerpos de acuerdo con la invención pueden ser anticuerpos quiméricos, humanizados o humanos, o fragmentos que se unen al antígeno de los mismos, y pueden utilizarse como un agente medicinal para el tratamiento de trastornos autoinmunes e inflamatorios y trastornos de la proliferación y desarrollo celular. La invención también se relaciona con métodos para producir los anticuerpos.

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

130
131

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 16 - 0037426

Bogotá D.C., Abril 19 de 2016 - 15:05:51

RECIBIDO DE : MARIO DELGADO ECHEVERRY E HIJOS LTDA NI 800.020.909

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	740666533	19/04/2016	3.589.050.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
33	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INICIALES	40.000.00	1.320.000.00
				$1.320.000.00

SON: **UN MILLON TRESCIENTOS VEINTE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE*

Responsable: _____
-**-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. PCT/RU2014/000808

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 16-099537- -00000-0000
Fecha: 2016-04-19 16:48:56 Dep: 2020 DIR.NUEVASCF
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: ~~132~~ 133

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

132

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 16 - 0020601

Bogotá D.C., Marzo 03 de 2016 - 12:52:52

RECIBIDO DE : MARIO DELGADO ECHEVERRY E HIJOS LTDA NI 800.020.909

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	453666662	03/03/2016	4.550.100.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCION	80.000.00	80.000.00
				$80.000.00

SON: **OCHENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-*********-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. PCT/RU2014/000808

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 16-099537- -00000-0000
Fecha: 2016-04-19 16:48:56 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: ~~132~~ 133

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 16-099537- -00000-0000

Fecha: 2016-04-19 16:48:56 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: ~~132~~ 133

2

133

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	ADMIS

PATENTE DE INVENCIÓN ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐ Art 33 Decisión 486/00

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCIÓN PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☒ Indicación que se solicita una PCT
- ☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☒ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☒ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

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

Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

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

Completa ☐ Incompleta ☐