

Anticuerpos antagonistas del interferón alfa y omega

Campo de la invención

La presente invención se relaciona con anticuerpos que neutralizan
5 ampliamente el interferón- α y el interferón- ω , los polinucleótidos que codifican los anticuerpos o fragmentos, y los métodos para producirlos y sus usos.

Antecedentes de la invención

Los interferones (IFN) tipo I (IFN-I) son una familia de citocinas que
10 señalizan a través de un receptor heterodimérico IFNAR expresado ubicuamente (heterodímero de IFNAR1 e IFNAR2) lo que resulta en efectos antivirales, antiproliferativos e inmunomoduladores. En humanos, el IFN tipo I está compuesto de al menos 12 subtipos de proteína IFN- α y 1 subtipo de cada uno de IFN- β , IFN- ϵ , IFN- κ , e IFN- ω . La liberación de IFN-I se produce en respuesta a ligandos tanto
15 microbianos como estériles. Tras la unión al receptor, el IFN-I inicia una cascada de señalización a través de la activación de JAK1 y TYK2 que conduce a la fosforilación de diversos miembros de la familia STAT que incluye los STAT 1-6. La activación de STAT1 y STAT2 conduce a la formación de un complejo con el factor 9 de regulación de IFN (IRF9) y este complejo, conocido también como el complejo
20 de factor génico 3 estimulado por IFN (ISGF3), se une a elementos de respuesta estimulados por IFN (ISRE) en el núcleo lo que resulta en la transcripción de muchos genes estimulados por interferón (ISG) que incluyen IRF7 y CXCL10 (IP-10) (Gonzalez-Navajas y colaboradores, *Nature reviews. Immunology* **12**, 125

(Febrero, 2012). El IFN-I modula, además, la función celular a través de otras rutas que incluyen el virus de sarcoma V-crk similar al homólogo del oncogén CT10 del virus del sarcoma (avian) (CRKL), la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK), la fosfoinositida 3-cinasa (PI3K), y a través del potenciador de cadena ligera del factor kappa de células B activadas (NF- κ B) (Hervas-Stubbs y colaboradores, *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research* **17**, 2619 (1 de mayo, 2011)).

Varias enfermedades inflamatorias mediadas por el sistema inmunológico o enfermedades autoinmunes, tales como el lupus, que incluyen el lupus eritematoso sistémico (SLE) y el lupus eritematoso cutáneo (CLE), la diabetes tipo I, la psoriasis, la enfermedad de Sjögren, la esclerosis sistémica, la artritis reumatoide, la trombocitopenia inmunológica (ITP), el síndrome Aicardi-Goutieres (AGS), la miositis, la deficiencia inmunológica común variable (CVID) y la enfermedad tiroidea autoinmune se asocian al menos en una subpoblación de pacientes con sobreexpresión de transcritos génicos inducibles por IFN comúnmente llamada firma de IFN presente en la sangre total y/o tejido, o con IFN-I elevado.

SLE es una enfermedad inflamatoria autoinmune crónica o mediada por el sistema inmunológico en la que la producción de autoanticuerpos y de complejos inmunológicos patogénicos resulta en daño tisular a través de múltiples sistemas de órganos. La enfermedad presenta una amplia gama de los síntomas con presentación clínica heterogénea y puede incluir manifestaciones sistémicas, cutáneas, renales, musculoesqueléticas, neurológicas y hematológicas. SLE varía considerablemente en la gravedad y es crónico, remitente o recidivante con

destellos de actividad en ciclos con períodos de mejoría o de remisión que pueden durar semanas, meses, o años. El IFN- α se eleva en pacientes con SLE y se piensa que promueve una pérdida de tolerancia a sí mismo. Se ha demostrado que el IFN- α contribuye a la activación sostenida de células dendríticas y, por lo tanto, a la presentación del antígeno, y a la supresión de la función Treg que contribuye a SLE. El IFN- α induce, además, la expresión de BLyS, un objetivo para el BENLYSTA™ terapéutico comercializado para SLE. Se han identificado un número de polimorfismos asociados con la producción o la respuesta a IFN-I y representan más de la mitad de los polimorfismos confirmados asociados con SLE (Ghodke-Puranik & Niewold, *International journal of clinical rheumatology* **8**, doi:10.2217/ijr.13.58 (2013)). Los anticuerpos que neutralizan diversos subtipos de IFN- α (anticuerpos pan-IFN- α) se evaluaron en ensayos clínicos para SLE (ver, por ejemplo, la publicación internacional de patente núm. WO02/066649, publicación internacional de patente núm. WO05/059106, publicación internacional de patente núm. WO06/086586, publicación internacional de patente núm. WO09/135861).

El IFN- ω constituye aproximadamente el 15 % de la actividad total de IFN-I en preparaciones de IFN de leucocitos humanos producidas después de la infección viral (Adolf, *Virology* **175**, 410 (abril, 1990)). Se ha informado que la expresión de los genes de IFN- ω se eleva en pacientes con SLE (Han y colaboradores, *Genes and immunity* **4**, 177 (abril, 2003); Yao y colaboradores, *Hum Genomics Proteomics* **2009**, (2009)), y se ha informado la capacidad de IFN- ω para inducir la diferenciación DC (Walker y Tough, *European Journal of Immunology* **36**, 1827 (julio, 2006)). Los anticuerpos anti-IFN- α actualmente en ensayos clínicos (sifalimumab (MEDI-545), rontalizumab y AGS-

009) no neutralizan el IFN- ω . Los datos de los ensayos clínicos con estos anticuerpos indican la reducción parcial de la firma del IFN tipo I en pacientes después del tratamiento con anticuerpos anti-IFN- α (Merrill y colaboradores, *Ann Rheum Dis* 70:1905-1913, 2011; Yao y colaboradores, *Arthritis Rheum* 60:1785-1796, 2009), y los

5 datos de los ensayos de la Fase 2 con rontalizumab (un anticuerpo pan-anti-IFN- α) indican la mejoría de los signos y síntomas de SLE, las tasas de inflamación, y la carga de esteroides a la semana 24 en un grupo definido de biomarcadores preestablecidos por la métrica de firma del interferón (ISM)-sujetos con lupus moderado o gravemente activo. No se observó eficacia en los pacientes que tienen

10 niveles más altos de expresión de genes inducible por IFN predefinida como ISM-Alto (Kalunian y colaboradores, 2012 ACR/ARHP Annual Meeting; Abstract # 2622, 2012).

Además de los anticuerpos anti-IFN, se han investigado los anticuerpos anti-IFNAR1 para el tratamiento de lupus (Wang y colaboradores, 2013; *Clinical Pharmacology & Therapeutics* accepted article preview 14 de febrero 2013; doi:

15 10.1038/clpt.2013.35). Es probable que el bloqueo de IFNAR1 suprima la señalización de IFN inducida por todos los tipos de IFN tipo I, que incluye el IFN- β . El IFN- β puede jugar un papel más crítico en la defensa antiviral, ya que la supresión específica del gen que codifica IFN- β supone una susceptibilidad sustancial a un huésped de virus cuando se compara con ratones expuestos de forma similar que tienen IFN- β funcional

20 (Lazear y colaboradores, *J Virol* 85:7186-7194; Deonarain y colaboradores, *J Virol* 74(7): 3404-340, 2000; Deonarain y colaboradores, *Circulation* 110: 3540-3543, 2004; Gerlach, y colaboradores, *J Virol* 80: 3438-3444, 2006). Por lo tanto, los anticuerpos anti-IFNAR1 pueden aumentar el riesgo de efectos secundarios.

El estándar actual de atención para el SLE incluye corticosteroides, fármacos contra la malaria, inmunosupresores o moduladores de células B. Estos agentes terapéuticos pueden presentar toxicidad y otros efectos secundarios graves, y pueden no ser adecuados para el tratamiento de todos los pacientes con lupus. Por lo tanto, existe la necesidad de nuevos tratamientos terapéuticos para el lupus y otras enfermedades inflamatorias mediadas por el sistema inmunológico o enfermedades autoinmunes.

Breve descripción de las figuras

La **Figura 1A** muestra los niveles de IFN- ω e IFN- α (pg/ml) en el plasma de pacientes chinos con SLE. Las barras horizontales en la figura indican el valor medio por ELISA de las muestras replicadas, las barras verticales indican la desviación estándar (SD).

La **Figura 1B** muestra los niveles séricos de IFN- ω e IFN- α (pg/ml) en pacientes caucásicos con SLE. El círculo sólido oscuro indica los niveles más altos de IFN- α y el círculo de líneas punteadas indica los niveles plasmáticos más altos de IFN- ω entre los diversos donantes. Las barras horizontales en la figura indican el valor medio por ELISA de las muestras replicadas, las barras verticales indican SD.

La **Figura 1C** muestra que el suero del paciente activa las rutas de señalización del interferón corriente abajo medidas mediante el uso del ensayo de gen reportero ISRE. El donante que tiene la mayor cantidad de proteína IFN- α (círculo sólido oscuro) e IFN- ω (círculo de líneas punteadas) demostró, además, los

mayores niveles de inducción de ISRE en el ensayo de gen reportero. Los resultados son lecturas de un solo pocillo para cada muestra de suero.

La **Figura 2** muestra la inhibición de IFN inducido por el complejo inmunológico SLE con concentración en aumento (0,4 - 100 $\mu\text{g/ml}$) de anticuerpo anti-IFN- α solo o a 100 $\mu\text{g/ml}$, en combinación con anticuerpo anti-IFN- ω (20 $\mu\text{g/ml}$). Los complejos inmunológicos SLE (SLE IC) se prepararon a partir de dos donantes diferentes (donante de SLE 232 o 293). El bloqueo combinado de IFN- ω e IFN- α resultó en la mejora de la supresión de la actividad de IFN inducida por SLE IC, según se midió mediante el uso del ensayo ISRE. Medios acondicionados de HV IC = medios acondicionados de las PBMC estimuladas con complejos inmunológicos de donantes sanos.

La **Figura 3** muestra la inducción de la secreción de IP-10 a partir de las PBMC de 6 individuos sanos estimulados con IFN- α o IFN- ω como se indica.

La **Figura 4A** muestra la secreción de IFN- γ por células T CD4⁺ en presencia de las DC diferenciadas en presencia de IFN- ω , IFN- α , IFN- ω y anticuerpo anti-IFN- ω , o IFN- α y anticuerpo anti-IFN- α , o control de isotipo (iso) como se indica. Las DC diferenciadas en presencia ya sea de IFN- ω o IFN- α inducen la activación de células T CD4⁺ a un mismo grado, mientras que las DC diferenciadas en presencia de anticuerpos neutralizantes anti-IFN- ω o anti-IFN- α no inducen la diferenciación de células T CD4⁺. Las DC diferenciadas se cultivaron con células T CD4⁺ purificadas a relaciones de DC: células T CD4⁺ de 1:20. El IFN- γ secretado se midió al día 6. Los datos son representativos de 2 estudios. Las barras de error indican la SD de triplicados de Luminex. CONC: concentración.

La **Figura 4B** muestra la secreción de IL-17 por células T CD4⁺ en presencia de las DC diferenciadas en presencia de IFN- ω , IFN- α , IFN- ω y anticuerpo anti-IFN- ω , o IFN- α y anticuerpo anti-IFN- α , o control de isotipo (iso) como se indica. Las DC diferenciadas en presencia ya sea de IFN- ω o IFN- α inducen la activación de células T CD4⁺ a un mismo grado, mientras que las DC diferenciadas en presencia de anticuerpos neutralizantes anti-IFN- ω o anti-IFN- α no inducen la diferenciación de células T CD4⁺. Las DC diferenciadas se cultivaron con células T CD4⁺ purificadas a relaciones de DC: células T CD4⁺ de 1:20. La IL-17 secretada se midió al día 6. Los datos son representativos de 2 estudios. Las barras de error indican la SD de triplicados de Luminex. CONC: concentración.

La **Figura 5A** muestra que el IFN- ω induce la activación de células B independientes de células T al mismo grado que el IFN- α . La activación de células B se evaluó mediante la expresión superficial de CD86 mediante el uso del anticuerpo anti-CD86 marcado fluorescentemente. La activación de células B independientes de células T se indujo por CpG (ODN2006) y/o anticuerpos anti-receptor de células B (aBCR) como se indica en la figura. El IFN- ω o IFN- α (IFN- α B2) se usó a la concentración indicada. Se midió la fluorescencia media. Las células B se obtuvieron a partir de un donante. Los resultados se expresaron como valores medios de la SD $\pm$ de muestras duplicadas.

La **Figura 5B** muestra que el IFN- ω induce la secreción de IL-6 a partir de células B activadas en forma no dependiente de células T en el mismo grado que el IFN- α . La activación de células B independientes de células T se indujo por CpG

(ODN-2006) y/o anticuerpos anti-BCR (aBCR) como se indica en la figura. Se usó el IFN- ω o el IFN- α (IFN- α 2B) a la concentración indicada. La concentración de IL-6 se indica como pg/ml. Las células B se obtuvieron a partir de un donante. Los resultados se expresaron como valores medios de la SD $\pm$ de muestras duplicadas.

5 La **Figura 6** muestra que el IFN- ω induce la secreción de BLyS a partir de las PBMC humanas al mismo grado que el IFN- α (IFN- α 2B). La concentración de IFN- ω o IFN- α usada para estimular a las PBMC se indica en el eje X. La concentración de BLyS se muestra como pg/ml. Los resultados se expresan como valores medios de la SD $\pm$ de muestras duplicadas.

10 La **Figura 7A** muestra la estructura molecular global del complejo IFN- ω /Fab IFWM371 (solo se muestra el Fv del anticuerpo). El área del recuadro se amplía en la Figura 7B. Se indican el bucle IFN- ω AB (AB), la hélice E (E) y la hélice D (D) de IFN- ω . Los círculos pequeños representan las moléculas de agua. Se indican VL y VH o IFWM371.

15 La **Figura 7B** muestra una ampliación del área del recuadro de la Figura 7A, que demuestra una red de enlaces hidrógeno mediada a través de las moléculas de agua (complejo de agua (WC) 1, 2, y 3) en la interfaz IFN- ω /Fab IFWM371.

 La **Figura 8A** muestra el epítopo en el complejo IFN- ω /Fab IFWM371. La numeración de los residuos de IFN- ω es de acuerdo con la sec. con núm. de ident.: 1.

20 La **Figura 8B** muestra el paratopo en el complejo IFN- ω /Fab IFWM371. Los residuos Y32, Y92, T94 y L96 son residuos en la VL, y los residuos W33, I50, D57, T58, R59, H99, P100, G101, L102, N103, W104, A105 y D107 son residuos en la

VH en contacto con el IFN- ω . VL: Sec. con núm. de ident.: 29; VH: Sec. con núm. de ident.: 28. T94 y A105 no se muestran en la figura.

La **Figura 8C** muestra un mapa de interacción bidimensional entre IFN- ω y Fab IFWM371. Los residuos del recuadro son residuos del paratopo de VL, y los
 5 residuos del círculo son residuos del paratopo de VH. Los residuos resaltados en gris son residuos del epítopo de IFN- ω . La numeración de los residuos de VL, VH e IFN- ω es de acuerdo con las secs. con núms. de ident.: 29, 28 y 1, respectivamente. Las interacciones Van der Waals (VDW) e hidrófobas se muestran en líneas sólidas, las electrostáticas y los enlaces de H en líneas discontinuas, las
 10 flechas indican las interacciones de la cadena principal con las flechas que apuntan a los átomos de la cadena principal. La mayoría de las interacciones se forman por los tres residuos F27, L30 y R33 del epítopo de IFN- ω .

La **Figura 9** muestra una alineación de IFN- ω con diversos subtipos de IFN- α . Las flechas indican los residuos de epítopo a los que se une el IFWM371. F27,
 15 L30 y R33 se conservan en los IFN tipo I, excepto en el IFN- α D al que no se une el IFWM371. La numeración de residuos es de acuerdo con el IFN- ω humano de sec. con núm. de ident.: 1 (IFN ω -01 en la Figura). IFN α - 01/D/1: Sec. con núm. de ident.: 18; IFN α - 02/A: Sec. con núm. de ident.: 5; IFN α - 04/A/B: Sec. con núm. de ident.: 15; IFN α - 07/J: Sec. con núm. de ident.: 13; IFN α - 10/C: Sec. con núm. de
 20 ident.: 7; IFN α - 17/I: Sec. con núm. de ident.: 12; IFN α - 21/F: Sec. con núm. de ident.: 9; IFN α - 14/H: Sec. con núm. de ident.: 11; IFN α - 16/WA: Sec. con núm. de

ident.: 16; IFN α - 08/B2: Sec. con núm. de ident.: 6; IFN α - 05/G: Sec. con núm. de ident.: 10; IFN α - 06/K: Sec. con núm. de ident.: 14.

La **Figura 10** muestra los valores de IC₅₀ de anticuerpos seleccionados para diversos IFN tipo I en un ensayo ISRE.

5 La **Figura 11A** muestra la neutralización de la liberación de IP10 inducida por IFN de leucocitos en sangre humana total con anticuerpos anti-IFN- α/ω . El IFN de leucocitos (Lk) se usó para inducir la secreción de IP-10 en sangre total de donante sano de 2 sujetos. La sangre total se incubó con interferón de leucocitos (LK) con o sin anticuerpos anti-IFN- α/ω IFWM3522 o IFWM3525 a diversas
10 concentraciones (10 μ g/ml-10 pg/ml) como se indica en la figura. La barra representa la media y las barras de error la SD de los pocillos duplicados. Los datos son el resultado representativo de 2 experimentos independientes mediante el uso de sangre total de 2 donantes humanos diferentes.

 La **Figura 11B** muestra la neutralización de la liberación de IP-10 inducida
15 por IFN de leucocitos en sangre humana total con anticuerpos anti-IFN- α/ω . El IFN de leucocitos (Lk) se usó para inducir la secreción de IP-10 en sangre total de donante sano de 2 sujetos. La sangre total se incubó con interferón de leucocitos (LK) con o sin anticuerpos anti-IFN- α/ω IFWM3399 o control de isotipo a diversas concentraciones (10 μ g/ml-10 pg/ml) como se indica en la figura. La barra
20 representa la media y las barras de error la SD de los pocillos duplicados. Los datos son el resultado representativo de 2 experimentos independientes mediante el uso de sangre total de 2 donantes humanos diferentes.

La **Figura 12A** muestra la neutralización de la liberación de IP-10 inducida por el complejo inmunológico de SLE en sangre humana total con anticuerpos anti-IFN- α/ω . La sangre total se incubó con preparaciones de interferón inducido por el complejo inmunológico de SLE con o sin anticuerpos anti-IFN- α/ω IFWM3522 o IFWM3525 a diversas concentraciones (10 $\mu\text{g/ml}$ -10 pg/ml) como se indica en la Figura, y se analizó IP-10 a partir de plasma mediante el uso de un estuche de ELISA. La barra representa la media y las barras de error la SD de los pocillos duplicados. Los datos son el resultado representativo de 4 experimentos independientes mediante el uso de sangre total de 2 donantes humanos diferentes.

La **Figura 12B** muestra la neutralización de la liberación de IP-10 inducida por el complejo inmunológico de SLE en sangre humana total con anticuerpos anti-IFN- α/ω . La sangre total se incubó con preparaciones de interferón inducido por el complejo inmunológico de SLE con o sin anticuerpo anti-IFN- α/ω IFWM3399 o control de isotipo a diversas concentraciones (10 $\mu\text{g/ml}$ -10 pg/ml) tal como se indica en la figura, y se analizó IP 10 a partir de plasma mediante el uso de un estuche de ELISA. La barra representa la media y las barras de error la SD de los pocillos duplicados. Los datos son el resultado representativo de 4 experimentos independientes mediante el uso de sangre total de 2 donantes humanos diferentes.

La **Figura 13** muestra la normalización de la expresión del gen MX1 en la sangre de pacientes con SLE después de la exposición *in vitro* de la sangre al anticuerpo anti-IFN- α/ω IFWM2423 o control de isotipo durante 24 horas a diversas concentraciones ($\mu\text{g/ml}$) como se indica en la figura. La barra representa la media y las barras de error la SD de pocillos triplicados. La expresión del gen MX1 se normalizó a β -actina.

La **Figura 13B** muestra la normalización de la expresión del gen MX1 en la sangre de pacientes con SLE después de la exposición *in vitro* de la sangre al anticuerpo anti-IFN- α/ω IFWM3522 e IFWM2525 o control de isotipo durante 24 horas a diversas concentraciones ($\mu\text{g/ml}$) como se indica en la figura. La barra
 5 representa la media y las barras de error la SD de pocillos triplicados. La expresión del gen MX1 se normalizó a β -actina.

La **Figura 14A** muestra las interacciones de los enlaces hidrógeno (H) entre el residuo R33 del epítipo con la VH de M371 así como también las moléculas de agua en la interfaz anticuerpo/antígeno en la estructura IFN- ω /M341.

10 La **Figura 14B** muestra las interacciones modificadas de enlaces H entre el residuo R33 del epítipo con la VH de M3421 así como también las moléculas de agua en la estructura IFN- ω /M3421.

La **Figura 14C** muestra la secuencia (mutación L96I) y los cambios estructurales tras la maduración de M371. En la estructura de M371, F108 de VH se describe mejor
 15 como que tiene conformaciones alternativas. En la estructura de M3421, se convierten en una conformación, lo que sugiere un empaquetamiento más ajustado entre VH y VL. Además, existe un giro del rotámero de la cadena lateral del W47 de VH.

La **Figura 14D** muestra la secuencia y los cambios estructurales tras la maduración de M371. El Y32 de VL se mutó en un F más hidrófobo (Y32F) y se
 20 eliminaron los dos enlaces H entre Y32 en M371 e IFN- ω . El A50 de VL se mutó en F (A50F). Este residuo no se encuentra en contacto directo con el antígeno pero se apila contra W104 de VH que se pone en contacto con el antígeno. Otros dos cambios (S31G y S30D) no están implicados en la unión con el antígeno o afectan directamente los

residuos de unión similares a A50F. Es probable que estos cambios en los residuos influyan en la hidrofobicidad local y optimicen la interacción del solvente.

La **Figura 15** muestra un mapa de interacción bidimensional entre el IFN- ω y Fab IFWM3421. Los residuos del recuadro son residuos del paratopo de VL, y los
 5 residuos del círculo son residuos del paratopo de VH. Los residuos resaltados en gris son residuos del epítopo de IFN- ω . La numeración de los residuos de VL, VH e IFN- ω es de acuerdo con las secs. con núms. de ident.: 28, 71 y 1, respectivamente. Las interacciones Van der Waals (VDW) e hidrófobas se muestran en líneas sólidas, las electrostáticas y los enlaces H en líneas
 10 discontinuas, las flechas indican las interacciones de la cadena principal con las flechas que apuntan a los átomos de la cadena principal. La mayoría de las interacciones se forman por los tres residuos F27, L30 y R33 del epítopo de IFN- ω .

La **Figura 16** muestra un mapa de interacciones bidimensional entre IFN- ω y Fab IFWM3525. Los residuos del recuadro son residuos del paratopo de VL, y los
 15 residuos del círculo son residuos del paratopo de VH. Los residuos resaltados en gris son residuos del epítopo de IFN- ω . La numeración de los residuos de VL, VH e IFN- ω es de acuerdo con las secs. con núms. de ident.: 28, 71 y 1, respectivamente. Las interacciones Van der Waals (VDW) e hidrófobas se muestran en líneas sólidas, las electrostáticas y los enlaces H en líneas
 20 discontinuas, las flechas indican las interacciones de la cadena principal con las flechas que apuntan a los átomos de la cadena principal. La mayoría de las interacciones se forman por los tres residuos F27, L30 y R33 del epítopo de IFN- ω .

Resumen de la invención

Una modalidad de la invención es un anticuerpo monoclonal aislado que se une a y neutraliza una actividad biológica de un interferón omega humano (IFN- ω) y al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos de interferón alfa humano (IFN- α).

Otra modalidad de la invención es un anticuerpo monoclonal aislado que se une a y neutraliza una actividad biológica de un interferón omega humano (IFN- ω) y al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos de interferón alfa humano (IFN- α), en donde el anticuerpo neutraliza la actividad biológica del IFN- ω humano con un IC₅₀ de al menos aproximadamente 1×10^{-9} M o menos, aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, aproximadamente 5×10^{-11} M o menos, o aproximadamente 1×10^{-11} M o menos.

En otras modalidades, el anticuerpo de la invención neutraliza la actividad de al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos de IFN- α humano con un valor de IC₅₀ de al menos aproximadamente 2×10^{-10} M o menos, aproximadamente $1,5 \times 10^{-10}$ M o menos, o aproximadamente 1×10^{-10} M o menos.

En otras modalidades, el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) y 3 (HCDR3) de las secs. con núms. de ident.: 109, 114 y 121, respectivamente, y las secuencias de aminoácidos de la región determinante de la complementariedad de cadena liviana (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) y 3 (LCDR3) de sec. con núms. de ident.: 118, 119 y 120.

En otras modalidades, el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 114, 121, 159, 119 y 160, respectivamente.

En otras modalidades, el anticuerpo neutraliza al menos diez subtipos de IFN- α humano seleccionados del grupo que consiste en IFN- α A, IFN- α B2, IFN- α C, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α I, IFN- α J1, IFN- α K, IFN- α WA e IFN- α 4a.

En otras modalidades, el anticuerpo se une a IFN- ω humano de la sec. con núm. de ident.: 1 al menos en los residuos de aminoácidos F27, L30 y R33.

En otras modalidades, el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 114, 121, 161, 119 y 162, respectivamente.

En otras modalidades, el anticuerpo neutraliza al menos los subtipos de IFN- α humano IFN- α A, IFN- α B2, IFN- α C, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α J1 e IFN- α 4a.

En otras modalidades, el anticuerpo comprende una secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (VH) al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 28 y secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (VL) idénticas en al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la sec. con núm. de ident.: 150.

En otras modalidades, el anticuerpo comprende ciertas secuencias de HCDR y LCDR como se describe en la presente.

En otras modalidades, el anticuerpo comprende ciertas secuencias de VH y VL como se describe en la presente.

Otra modalidad de la invención es una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable.

Otra modalidad de la invención es un polinucleótido que codifica VH y/o VL del anticuerpo de la invención.

5 Otra modalidad de la invención es un vector que comprende el polinucleótido de la invención.

Otra modalidad de la invención es una célula huésped que comprende el vector de la invención.

Otra modalidad de la invención es un método para producir el anticuerpo de la invención, que comprende cultivar la célula huésped de la invención en condiciones en
10 que se expresa el anticuerpo, y recuperar el anticuerpo producido por la célula huésped.

Otra modalidad de la invención es un método para tratar una enfermedad inflamatoria mediada por el sistema inmunológico o una enfermedad autoinmune, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo
15 aislado de la invención a un paciente que necesita de éste durante un tiempo suficiente para tratar o prevenir la enfermedad.

En algunas modalidades, la enfermedad inflamatoria mediada por el sistema inmunológico o la enfermedad autoinmune es lupus, psoriasis, trombocitopenia inmunológica (ITP), síndrome de Aicardi-Goutieres (AGS), esclerosis sistémica,
20 síndrome de Sjögren, miositis, deficiencia inmunológica común variable (CVID), enfermedad tiroidea autoinmune, diabetes tipo I, artritis reumatoide, rechazo del trasplante o enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD).

Descripción detallada de la invención

Todas las publicaciones, que incluyen, pero no se limitan a patentes y solicitudes de patentes, citadas en esta descripción se incorporan en la presente como referencia como si se expusieran completamente.

5 Debe entenderse que la terminología usada en la presente tiene el propósito de solo describir modalidades particulares y no pretende ser limitativa. A menos que se defina de cualquier otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por un experto en la técnica a la que esta invención pertenece.

10 Aunque pueden usarse los métodos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos en la presente en la práctica para probar la presente invención, en la presente se describen materiales y métodos ilustrativos. Para describir y reivindicar la presente invención, se usará la siguiente terminología.

El término “unión específica” o “se une específicamente” o “se une” como se
15 usa en la presente se refiere a la unión del anticuerpo a un antígeno o a un epítipo dentro del antígeno con mayor afinidad que por otros antígenos. Típicamente, el anticuerpo se une al antígeno o al epítipo dentro del antígeno con una constante de disociación (K_D) de 1×10^{-8} M o menos, por ejemplo, 1×10^{-9} M o menos, 1×10^{-10} M o menos, 1×10^{-11} M o menos, o 1×10^{-12} M o menos, típicamente con una K_D que es al
20 menos diez veces menor que su K_D por la unión a un antígeno inespecífico (por ejemplo, BSA, caseína). La constante de disociación puede medirse mediante el uso de los procedimientos estándar. Los anticuerpos que se unen específicamente al antígeno o al epítipo dentro del antígeno pueden, sin embargo, tener reactividad cruzada con

otros antígenos relacionados, por ejemplo, con el mismo antígeno de otras especies (homólogos), tales como un ser humano o mono, por ejemplo, *Macaca fascicularis* (cynomolgus, cino) o *Pan troglodytes* (chimpancé). Los anticuerpos que se unen específicamente al antígeno o al epítipo dentro del antígeno pueden, además, unirse a un epítipo que se comparte entre los dos o más antígenos distintos tales como al menos un subtipo de interferón alfa (IFN- α) y el interferón omega (IFN- ω); es decir, los anticuerpos reaccionan de forma cruzada con los subtipos de IFN- α y con IFN- ω .

El término “neutralización” o “neutraliza” o “anticuerpo neutralizante” o “anticuerpo antagonista”, como se usa en la presente, se refiere a un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que inhibe parcial o totalmente la actividad biológica del interferón omega recombinante humano (IFN- ω) y/o al menos un subtipo de interferón alfa recombinante humano (IFN- α). Los anticuerpos neutralizantes pueden identificarse mediante el uso de los ensayos de actividad biológica de IFN- α y/o IFN- ω que se describen en la presente. El anticuerpo neutralizante de IFN- α y/o IFN- ω puede inhibir la actividad biológica medida de IFN- α y/o IFN- ω en un 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %.

El término “interferón- α ” (IFN- α) como se usa en la presente se refiere a todos los subtipos nativos de interferones alfa humanos. El IFN- α nativo consiste en al menos 12 subtipos de proteínas estrechamente relacionadas codificadas por distintos genes con un alto grado de homología estructural (Weissmann y Weber, Prog Nucl Acid Res Mol Biol., 33: 251, 1986; Roberts y colaboradores, J Interferón Cytokine Res. 18: 805-816, 1998). La nomenclatura de los interferones humanos se

encuentra en: [http://www_genenames_org/genefamilies/_IFN](http://www.genenames_org/genefamilies/_IFN). La **Tabla 4** muestra las secuencias de los subtipos de IFN- α usados en la presente descripción, además de otros tipos de IFN tipo I.

El término IFN- ω como se usa en la presente descripción, se refiere al IFN- ω humano que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la sec. con núm. de ident.: 1 y el número de acceso de UniProt P05000. El IFN- ω humano incluye, además, la variante de la sec. con núm. de ident.: 2 que tiene una sustitución de treonina a ácido glutámico en la posición 80 (T80).

El término “interferón tipo I” o “IFN-I” se refiere a todos los subtipos nativos de interferón- α humano y un subtipo de interferón- β , interferón- ϵ , interferón- ω e interferón- κ que se unen a un receptor de interferón IFNAR común.

Como se usa en la presente, el término “IFNAR” se refiere al receptor de interferón bien conocido que es un heterodímero o IFNAR 1 e IFNAR2. Las secuencias de proteínas de IFNAR1 e IFNAR2 se muestran en las secs. con núms. de ident.: 26 y 27, respectivamente. El dominio extracelular maduro de IFNAR1 se extiende por los residuos 28-436 de la sec. con núm. de ident.: 26 y el dominio extracelular maduro de IFNAR2 se extiende por los residuos 27-243 de la sec. con núm. de ident.: 27.

El término “anticuerpos”, como se usa en la presente, se entiende en un sentido amplio e incluye moléculas de inmunoglobulina que incluyen anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales que incluyen anticuerpos monoclonales murinos, humanos, humanizados y quiméricos, fragmentos de anticuerpos, anticuerpos biespecíficos o multiespecíficos formados a partir de al menos dos anticuerpos o fragmentos de anticuerpos intactos, anticuerpos diméricos,

tetraméricos o multiméricos, anticuerpos de cadena única, anticuerpos de dominio y cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobulina que comprende un sitio de reconocimiento de antígeno de la especificidad requerida.

Las inmunoglobulinas pueden asignarse a cinco clases principales, IgA, IgD, 5 IgE, IgG e IgM, en función de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de la cadena pesada. La IgA e IgG se subdividen, además, como los isotipos IgA₁, IgA₂, IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄. Las cadenas ligeras de los anticuerpos de cualquier especie de vertebrados pueden asignarse a uno de dos tipos evidentemente distintos, a saber kappa (κ) y lambda (λ), en base a las secuencias de aminoácidos 10 de sus dominios constantes.

El término “fragmentos de anticuerpo” se refiere a una porción de una molécula de inmunoglobulina que retiene el sitio de unión al antígeno de la cadena pesada y/o la cadena ligera, tal como las regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1, 2 y 3, las regiones determinantes de complementariedad de cadena 15 ligera (LCDR) 1, 2 y 3, una región variable de cadena pesada (VH), o una región variable de cadena ligera (VL). Los fragmentos de anticuerpo incluyen los fragmentos Fab, F(ab')₂, Fd y Fv bien conocidos así como también los anticuerpos de dominio (dAb) que consisten en un dominio VH. Los dominios VH y VL pueden enlazarse juntos a través de un enlazador sintético para formar diversos tipos de diseños de anticuerpos de 20 cadena única, en donde los dominios VH/VL se asocian intramolecularmente, o intermolecularmente en los casos en que los dominios VH y VL se expresan mediante constructos de anticuerpos de cadena única separados, para formar un sitio de unión al antígeno monovalente, tal como Fv de cadena única (scFv) o diacuerpo; descrito, por

ejemplo, en la publicación de patente internacional núm. WO1998/44001, publicación internacional de patente núm. WO1988/01649; publicación de patente de los EE. UU. núm. WO1994/13804; publicación de patente de los EE. UU. núm. WO1992/01047.

Una región variable de anticuerpo consiste en una región “marco” interrumpida por tres “sitios de unión a antígenos”. Los sitios de unión a antígenos se definen mediante el uso de diversos términos: (i) las regiones determinantes de complementariedad (CDR), tres en la VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3), y tres en la VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), se basan en la variabilidad de la secuencia (Wu y Kabat, J Exp Med 132:211-50, 1970; Kabat y colaboradores, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ta edición. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, Md., 1991). (ii) las “regiones hipervariables”, “HVR”, o “HV”, tres en la VH (H1, H2, H3) y tres en la VL (L1, L2, L3), se refieren a las regiones de los dominios variables de anticuerpo que son hipervariables en estructura como lo definen Chothia y Lesk (Chothia y Lesk, Mol Biol 196:901-17, 1987). Otros términos incluyen los “IMGT-CDR” (Lefranc y colaboradores, Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003) y “Specificity Determining Residue Usage” (SDRU) (Almagro, Mol Recognit 17:132-43, 2004). La base de datos internacional ImMunoGeneTics (IMGT)([http://www_imgt_org](http://www.imgt.org)) presenta una numeración estandarizada y definición de sitios de unión de antígenos. La correspondencia entre las delineaciones de las CDR, HV e IMGT se describe en Lefranc y colaboradores, Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003.

“Anticuerpo monoclonal”, como se usa en la presente, se refiere a una población homogénea de anticuerpos con composición molecular singular. El anticuerpo monoclonal puede ser inespecífico o multiespecífico.

“Residuos de Chothia”, como se usa en la presente descripción, son los residuos de VL y VH de anticuerpos numerados de acuerdo con Al-Lazikani (Al-Lazikani y colaboradores, J Mol Biol 273:927-48, 1997).

“Marco” o “secuencias marco” son las secuencias restantes de una región variable diferentes de las definidas como sitios de unión al antígeno. Debido a que el sitio de unión al antígeno puede definirse por diversos términos como se describió anteriormente, la secuencia de aminoácidos exacta de un marco depende de cómo se definió el sitio de unión al antígeno.

“Anticuerpos humanizados” se refiere a anticuerpos en los que los sitios de unión al antígeno se derivan a partir de especies no humanas y los marcos de la región variable se derivan a partir de secuencias de inmunoglobulinas humanas. Los anticuerpos humanizados pueden incluir sustituciones en las regiones marco de manera que el marco puede no ser una copia exacta de secuencias expresadas de inmunoglobulina humana o de líneas germinales de genes.

Anticuerpos “adaptados a humanos” o anticuerpos “adaptados al marco humano (HFA)” se refiere a anticuerpos humanizados adaptados de acuerdo con los métodos descritos en la publicación de la patente de los EE. UU. núm. US2009/0118127 Los anticuerpos adaptados a humanos se humanizan por la selección de los marcos humanos aceptores en base al máximo de similitud de los CDR y FR, compatibilidades de longitud y similitudes de secuencia de los lazos del CDR1 y CDR2 y una porción del lazo del CDR3 de cadena ligera.

“Anticuerpo humano” se refiere a un anticuerpo que tiene regiones variables de cadena pesada y ligera en las que las regiones marco y de sitios de unión al

antígeno se derivan de secuencias de origen humano. Si el anticuerpo contiene una región constante, la región constante además se deriva a partir de secuencias de origen humano.

El anticuerpo humano comprende regiones variables de cadena pesada y
5 ligera que se “derivan a partir de” secuencias de origen humano si las regiones variables del anticuerpo se obtienen a partir de un sistema que usa inmunoglobulina de línea germinal humana o genes de inmunoglobulinas reordenados. Tales sistemas ilustrativos son genotecas de inmunoglobulinas humanas expuestas en fago, y en animales transgénicos no humanos tales como ratones que portan los
10 locus de inmunoglobulina humana que se describen en la presente descripción. El “anticuerpo humano” puede contener diferencias de aminoácidos cuando se compara con las secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana o reordenadas debido a, por ejemplo, mutaciones somáticas de origen natural o la introducción intencional de sustituciones. Típicamente, el “anticuerpo humano” es al
15 menos aproximadamente 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico en secuencia de aminoácidos a una secuencia de aminoácidos codificada por un gen de inmunoglobulina de la línea germinal humana o reordenado. En algunos casos, el “anticuerpo humano” puede contener secuencias marco consenso
20 derivadas del análisis de secuencias marco humanas, por ejemplo, como se describe en Knappik y colaboradores (2000) *J. Mol. Biol.* 296:57-86), o HCDR3 sintético incorporado en genotecas de inmunoglobulinas humanas expuestas en fago, por

ejemplo, como se describe en Shi y colaboradores (2010) *J. Mol. Biol.* 397:385-96, 2010 y la publicación de patente internacional núm. WO2009/085462

Los anticuerpos humanizados aislados son sintéticos. Los anticuerpos humanos, aunque derivados de secuencias de inmunoglobulinas humanas, pueden generarse mediante el uso de sistemas tales como la exposición en fagos que incorporan las CDR sintéticas y/o marcos sintéticos, o pueden someterse a mutagénesis *in vitro* para mejorar las propiedades del anticuerpo, lo que resulta en anticuerpos que no existen naturalmente dentro del repertorio de la línea germinal de anticuerpos humanos *in vivo*.

Los anticuerpos humanos pueden incluir sustituciones en el marco o en el sitio de unión al antígeno, de manera que pueden no ser copias exactas de las secuencias del gen de la inmunoglobulina humana expresada o de la línea germinal. Sin embargo, los anticuerpos en los que los sitios de unión al antígeno se derivan de una especie no humana no se incluyen en la definición de “anticuerpo humano”.

El término “recombinante”, como se usa en la presente descripción, incluye anticuerpos y otras proteínas, tales como diversos subtipos de IFN- α o IFN- ω que se preparan, expresan, producen o aíslan mediante métodos recombinantes.

El término “epítipo”, como se usa en la presente descripción, significa una porción de un antígeno a la cual se une específicamente un anticuerpo. Usualmente, los epítipos consisten en agrupaciones superficiales químicamente activas (tales como polares, no polares o hidrófobas) de entidades tales como aminoácidos o cadenas laterales de polisacáridos y pueden tener características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Un epítipo puede estar compuesto de aminoácidos contiguos y/o discontinuos que

forman una unidad espacial conformacional. En un epítipo descontiguo, los aminoácidos de porciones diferentes de la secuencia lineal del antígeno se hallan muy próximos en espacio tridimensional a través del plegado de la molécula de proteína.

“Biespecífico”, como se usa en la presente, se refiere a un anticuerpo que se une a dos antígenos distintos o dos epítopos distintos dentro de un antígeno. El anticuerpo biespecífico puede tener reactividad cruzada con otros antígenos relacionados o puede unirse a un epítipo que se comparte entre dos o más antígenos distintos tales como al menos un subtipo de INF- α e INF- ω .

El término “en conjunto con”, como se usa en la presente, significa que los fármacos o agentes terapéuticos pueden administrarse a una especie animal tal como la humana juntos en una mezcla, al mismo tiempo como agentes individuales o secuencialmente como agentes individuales en cualquier orden.

Los términos “actividad biológica de INF- α ” y “actividad biológica de INF- ω ”, como se usan en la presente, se refieren a cualquier actividad que se produce como resultado de la unión de INF- α y de INF- ω , respectivamente, a su receptor IFNAR. Una actividad biológica de INF- α y de INF- ω es la capacidad de INF- α y de INF- ω para inducir la expresión de fosfatasa alcalina embrionaria secretada (SEAP) bajo el promotor inducible por interferón tal como ISG54 en células HEK293 que expresan establemente el transductor de señales y activador de la transcripción 2 (STAT2), el factor 9 regulador de interferón (IRF9) y SEAP mediante el uso de métodos estándar. Otra actividad biológica de INF- α y de INF- ω es la inducción de la producción de quimiocina IP-10 (CXCL10) a partir de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) o la sangre total como se describe en la presente.

El término “vector” significa un polinucleótido capaz de duplicarse dentro de un sistema biológico o que puede moverse entre dichos sistemas. Los polinucleótidos vectores contienen, típicamente, elementos tales como orígenes de replicación, señal de poliadenilación o marcadores de selección, que funcionan para facilitar la duplicación o el mantenimiento de esos polinucleótidos en un sistema biológico. Los ejemplos de esos sistemas biológicos pueden incluir una célula, virus, animal, planta, y sistemas biológicos reconstituidos que usan componentes biológicos capaces de duplicar un vector. El polinucleótido que comprende un vector puede ser moléculas de ADN o ARN o un híbrido de estas.

El término “vector de expresión” significa un vector que puede usarse en un sistema biológico o en un sistema biológico reconstituido para dirigir la traducción de un polipéptido codificado por una secuencia de polinucleótidos presente en el vector de expresión.

El término “polinucleótido” significa una molécula que comprende una cadena de nucleótidos enlazados covalentemente por un esqueleto de azúcares y fosfatos u otra forma de enlace químico covalente equivalente. Los ADN y ARN de hebra sencilla y de doble hebra son ejemplos típicos de polinucleótidos.

El término “polipéptido” o “proteína” significa una molécula que comprende al menos dos residuos de aminoácido enlazados por un enlace peptídico para formar un polipéptido. Los polipéptidos pequeños de menos de 50 aminoácidos pueden denominarse “péptidos”.

En la presente se usan los códigos convencionales de una y tres letras de los aminoácidos que se muestran en la **Tabla 1**.

Tabla 1.

Aminoácidos	Código de tres letras	Código de una letra
Alanina	ala	A
Arginina	arg	R
Asparagina	asn	N
Aspartato	asp	D
Cisteína	cys	C
Glutamato	glu	E
Glutamina	gln	Q
Glicina	gly	G
Histidina	his	H
Isoleucina	ile	I
Leucina	leu	L
Lisina	lys	K
Metionina	met	M
Fenilalanina	phe	F
Prolina	pro	P
Serina	ser	S
Treoninae	thr	T
Triptófano	trp	W
Tirosina	tyr	Y
Valina	val	V

Composiciones de materia

5 La presente invención proporciona anticuerpos monoclonales que se unen a y neutralizan la actividad del interferón omega humano (IFN- ω) y múltiples subtipos del interferón alfa humano (IFN- α) (anticuerpos anti-IFN- α/ω). La invención se basa en, al menos en parte, en el reconocimiento de la función de INF- ω en la patogénesis del lupus con efectos inmunomoduladores similares a los del IFN- α solo. Se encontró que el

10 IFN- ω está presente y activo en el suero de los pacientes con lupus, y se encontró que

el IFN- ω induce perfiles similares de liberación de citocinas y de expresión de genes, la diferenciación de células dendríticas, y la activación de células B independientes de células T cuando se compara con el IFN- α ; lo que proporciona la base para la justificación de la neutralización tanto del IFN- α como del IFN- ω para maximizar el efecto terapéutico. La invención también se basa, al menos en parte, en la identificación de un epítipo de neutralización mínimo compartido por IFN- ω y múltiples subtipos de IFN- α a los que se unen los anticuerpos anti-IFN- α/ω de la invención. Los anticuerpos anti-IFN α/ω de la invención pueden neutralizar el IFN- ω y múltiples subtipos de IFN- α con alta eficacia, y por lo tanto pueden ser más potentes en la neutralización de preparaciones relevantes de SLE de las firmas de IFN tipo I e IFN que los anticuerpos que neutralizan múltiples subtipos de IFN- α pero no IFN- ω . Por lo tanto, los anticuerpos de la invención pueden ser más eficaces en el tratamiento de las enfermedades inflamatorias mediadas por el sistema inmunológico o las enfermedades autoinmunes que incluyen el lupus. Como los anticuerpos anti-IFN- α/ω de la invención no neutralizan el IFN- β , pueden tener perfiles de seguridad y FC más favorables en comparación con las terapias anti-IFNAR, que se espera que bloqueen todos los IFN tipo I.

Una modalidad de la invención descrita en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo es un anticuerpo monoclonal aislado que se une a y neutraliza una actividad biológica de un interferón omega humano (IFN- ω) y al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos de interferón alfa humano (IFN- α).

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más

abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza la actividad del IFN- ω humano con un IC_{50} de al menos aproximadamente 1×10^{-9} M o menos, aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, aproximadamente 5×10^{-11} M o menos, o aproximadamente 1×10^{-11} M o menos, cuando la actividad del IFN- ω humano es la expresión inducida por el IFN- ω humano de la fosfatasa alcalina embrionaria secretada (SEAP) bajo el promotor ISG54
 5 inducible por interferón en células HEK293 que expresan establemente el transductor de señales y activador de la transcripción 2 (STAT2), el factor 9 regulador de interferón (IRF9) y SEAP (“Ensayo ISRE” que se describe en la presente).

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
 10 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza el IFN- ω y al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos de interferón alfa humano (IFN- α) seleccionados del grupo que consiste en IFN- α A, IFN- α B2, IFN- α C, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α I, IFN- α J1, IFN- α K, IFN- α WA e IFN- α 4a.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α H2 e IFN- α K.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas
 20 más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α G, IFN- α H2 e IFN- α K.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas

más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2 e IFN- α K.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2 e IFN- α K.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α J1 e IFN- α K.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α B, IFN- α G, IFN- α H2 e IFN- α K.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α B, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2 e IFN- α K.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α B, IFN- α C, IFN- α G, IFN- α H2 e IFN- α K.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α B, IFN- α C, IFN- α F, IFN- α G e IFN- α 4a.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α B, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α I e IFN- α K.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α B, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α J1 e IFN- α K.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α B, IFN- α C, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α J1 e IFN- α K.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α B, IFN- α C, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α I, IFN- α J1, IFN- α K e IFN- α 4a.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas

más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α B, IFN- α C, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α I, IFN- α J1, IFN- α WA e IFN- α 4a.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α B, IFN-
5 α C, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α J1, IFN- α K, IFN- α WA e IFN- α 4a.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza IFN- ω e IFN- α A, IFN- α B, IFN-
10 α C, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α I, IFN- α J1, IFN- α K, IFN- α WA e IFN- α 4a.

Los anticuerpos de la invención descritos en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, pueden unirse y neutralizar al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos de IFN- α , además de neutralizar a IFN- ω . Los
15 subtipos de IFN- α e IFN- ω pueden producirse mediante expresión recombinante mediante el uso de métodos estándar. Las secuencias señales ilustrativas que pueden usarse para dirigir la secreción se muestran en las secs. con núms. de ident.: 21-25.

Los anticuerpos de la invención descritos en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, pueden probarse en cuanto a su capacidad para neutralizar
20 IFN- α e IFN- ω en un ensayo de gen reportero mediante el uso de líneas celulares que expresan genes reporteros bajo un promotor sensible al interferón, y de

estimular células con los diversos subtipos de IFN- α y/o IFN- ω . Por ejemplo, pueden usarse las células HEK-Blue™ IFN- β/α (InvivoGen, San Diego, CA) diseñadas por ingeniería genética para expresar una ruta de señalización de IFN tipo I completamente activa (que expresan establemente STAT2 e IRF9) y transfectadas con un gen reportero SEAP bajo el control del promotor ISG54 inducible por IFN α/β como se describe en la presente. Puede detectarse la señal de la fosfatasa alcalina y puede calcularse IC₅₀ para la inhibición mediante el uso de métodos bien conocidos.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, los anticuerpos de la invención neutralizan la actividad biológica del IFN- ω humano con un valor de IC₅₀ de aproximadamente 1×10^{-9} M o menos, aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, aproximadamente 5×10^{-11} M o menos, o aproximadamente 1×10^{-11} M o menos, cuando la actividad biológica del IFN- ω humano es la inhibición de la expresión de la fosfatasa alcalina embrionaria secretada (SEAP) bajo el promotor ISG54 inducible por interferón en células HEK293 que expresan establemente el transductor de señales y activador de la transcripción 2 (STAT2), el factor 9 regulador de interferón (IRF9) y SEAP mediante el uso del “ensayo de gen reportero ISRE” como se describe en la presente en el **Ejemplo 1**.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, los anticuerpos de la invención neutralizan la actividad biológica del IFN- ω humano con un valor de IC₅₀ de al menos aproximadamente 1×10^{-10} M o menos,

cuando el IC_{50} se mide en el “ensayo de gen reportero ISRE” descrito en la presente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, los anticuerpos de la invención neutralizan la actividad biológica del IFN- ω humano con un valor de IC_{50} de entre aproximadamente 1×10^{-10} M a aproximadamente 6×10^{-12} M, cuando se mide IC_{50} en el “ensayo de gen reportero ISRE” descrito en la presente. El experto en la técnica apreciará que la desviación de ensayo del ensayo de gen reportero ISRE puede ser, típicamente, aproximadamente dentro de un pIC_{50} de aproximadamente 0,28 (log (M)). Por lo tanto, el término “aproximadamente” refleja la desviación estándar típica en el ensayo. Por ejemplo, la SD típica para un IC_{50} de 1×10^{-9} M, es de aproximadamente $0,53 \times 10^{-9}$ a $1,9 \times 10^{-9}$.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, los anticuerpos de la invención neutralizan la actividad biológica de al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos de IFN- α humano con un valor de IC_{50} de al menos aproximadamente 2×10^{-10} M o menos, aproximadamente $1,5 \times 10^{-10}$ M o menos, o aproximadamente 1×10^{-10} M o menos.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza la actividad del IFN- ω humano con un valor de IC_{50} de al menos aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, y al menos 6

subtipos de IFN- α humano con un valor de IC₅₀ de aproximadamente 2×10^{-10} M o menos, aproximadamente $1,5 \times 10^{-10}$ M o menos, o aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, cuando el valor de IC₅₀ se mide mediante el uso del “ensayo de gen reportero ISRE” descrito en la presente.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza la actividad del IFN- ω humano con un valor de IC₅₀ de al menos aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, y al menos 10 subtipos de IFN- α humano con un valor de IC₅₀ de aproximadamente 2×10^{-10} M o 10 menos, aproximadamente $1,5 \times 10^{-10}$ M o menos, o aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, cuando el valor de IC₅₀ se mide mediante el uso del “ensayo de gen reportero ISRE” descrito en la presente.

 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas 15 más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza la actividad del IFN- ω humano con un valor de IC₅₀ de al menos aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, y al menos 6 subtipos de IFN- α humano con un valor de IC₅₀ de aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, cuando el valor de IC₅₀ se mide mediante el uso del “ensayo de gen reportero ISRE” descrito en la presente.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza la actividad del IFN- ω humano con un valor de IC₅₀ de al menos aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, y al menos

10 subtipos de IFN- α humano con un valor de IC₅₀ de aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, cuando el valor de IC₅₀ se mide mediante el uso del “ensayo de gen reportero ISRE” descrito en la presente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, los anticuerpos de la invención inhiben la liberación de IP-10 inducida por interferón de leucocitos en la sangre total inducida por 250 U/ml de interferón en aproximadamente 50 % o más en presencia de 10 μ g/ml del anticuerpo que en ausencia del anticuerpo.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, los anticuerpos de la invención inhiben la liberación de IP-10 inducida por el complejo inmunológico del lupus eritematoso sistémico (SLE) en la sangre total en aproximadamente 50 % o más en presencia de 10 μ g/ml del anticuerpo que en ausencia del anticuerpo.

Los anticuerpos de la invención descritos en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, pueden evaluarse para comprobar su capacidad neutralizante mediante la evaluación de su capacidad para inhibir la liberación de citocinas inducida por IFN, tal como la liberación de IP-10 a partir de células mononucleares de la sangre periférica inducida por IFN (PBMC) o sangre total. Por ejemplo, las PBMC se aíslan a partir de sangre total heparinizada de voluntarios sanos mediante el uso de protocolos convencionales, se tratan con un complejo

preformado de IFN y el anticuerpo que se va a probar, y se mide la liberación de IP-10 mediante el uso de métodos estándar tales como el estuche de quimocina/citocina Milliplex (Millipore, premezclado 39 Plex). Los anticuerpos de la invención pueden inhibir la liberación de IP-10 en al menos 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % cuando se compara con la liberación de IP-10 inducida por IFN en ausencia del anticuerpo.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, los anticuerpos de la invención se unen al IFN- ω humano con una constante de disociación (K_D) de aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, aproximadamente 5×10^{-11} M o menos, aproximadamente 1×10^{-11} M o menos o aproximadamente 5×10^{-12} M o menos.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención se une al IFN- ω y a al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos de interferón alfa humano (IFN- α) seleccionados del grupo que consiste en IFN- α A, IFN- α B2, IFN- α C, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α I, IFN- α J1, IFN- α K, IFN- α WA e IFN- α 4a con una K_D de aproximadamente 5×10^{-10} M o menos, aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, aproximadamente 5×10^{-11} M o menos, aproximadamente 1×10^{-11} M o menos, o aproximadamente 5×10^{-12} M o menos.

La afinidad de un anticuerpo frente a IFN- ω o a diversos subtipos de IFN- α puede determinarse experimentalmente mediante el uso de cualquier método adecuado. Estos métodos pueden usar la instrumentación de ProteOn XPR36, Biacore

3000 o KinExA, ELISA o ensayos de unión competitiva conocidos por los expertos en la técnica. La afinidad medida de una interacción particular de anticuerpo/IFN- ω o anticuerpo/subtipos de IFN- α puede variar si se mide bajo condiciones diferentes (por ejemplo, osmolaridad, pH). Por lo tanto, las mediciones de la afinidad y otros parámetros de unión (p. ej., K_D , K_{on} , K_{off}) se realizan, preferentemente, con condiciones estandarizadas y un amortiguador estandarizado, tal como el amortiguador descrito en la presente descripción. El experto en la técnica apreciará que el error interno de las mediciones de afinidad, por ejemplo, mediante el uso de Biacore 3000 o ProteOn (medido como la desviación estándar, SD) puede encontrarse, típicamente, dentro del 5-33 % para las mediciones dentro de los límites típicos de detección. Por lo tanto, el término “aproximadamente” refleja la desviación estándar típica en el ensayo. Por ejemplo, la SD típica para una K_D de 1×10^{-9} M es de hasta $\pm 0,33 \times 10^{-9}$ M.

Los anticuerpos que se unen al IFN- ω humano y los subtipos de IFN- α con una afinidad y un perfil de neutralización deseados pueden seleccionarse a partir de genotecas de variantes o fragmentos mediante el cribado con IFN- ω humano y/o subtipos de IFN- α y opcionalmente, además, mediante la maduración de la afinidad por el anticuerpo. En una campaña de exploración ilustrativa, las genotecas de fagos pueden explorarse secuencialmente o mediante el uso de una mezcla de IFN- ω de chimpancé y los subtipos del IFN- α humano IFN- $\alpha 2$, IFN- $\alpha 1$, IFN- $\alpha H2$, IFN- αG e IFN- αF . Alternativamente, los anticuerpos de la invención pueden generarse mediante la inmunización de ratones con IFN- ω de chimpancé y cynomolgus, los subtipos de IFN- α IFN- αD , IFN- $\alpha J1$, IFN- αC , IFN- $\alpha B2$, IFN- $\alpha H2$, IFN- αA , IFN- $\alpha 4a$, IFN- αG , IFN- αF , IFN-

α WA e IFN- α I, y el tamizado de los hibridomas para la unión a IFN- ω y diversos subtipos de IFN- α , y evaluando después la capacidad de neutralización de los anticuerpos mediante el uso de los métodos descritos en la presente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de la región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) y 3 (HCDR3) de las secs. con núms. de ident.: 109, 114 y 121, respectivamente, y las secuencias de aminoácidos de la región determinante de la complementariedad de cadena liviana (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) y 3 (LCDR3) de sec. con núms. de ident.: 118, 119 y 120.

Los ejemplos de estos anticuerpos son los anticuerpos IFWM3308, IFWM3307, IFWM3410, IFWM3322, IFWM3385, IFWM3416, IFWM3310, IFWM3400, IFWM3321, IFWM3522, IFWM3524, IFWM3320, IFWM3304, IFWM3520, IFWM3399, IFWM3314, IFWM3331, IFWM3405, IFWM3442, IFWM3525, IFWM3423, IFWM3444 e IFWM3421. Estos anticuerpos neutralizan el IFN- ω humano, y al menos tres subtipos de IFN- α con un valor de IC_{50} de aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, y comprenden una secuencia de aminoácidos consenso de LCDR1 (sec. con núm. de ident.: 118), LCDR2 (sec. con núm. de ident.: 119), LCDR3 (sec. con núm. de ident.: 120), HCDR2 (sec. con núm. de ident.: 114) y HCDR3 (sec. con núm. de ident.: 121) y una secuencia de aminoácidos constante de HCDR1 (sec. con núm. de ident.: 109). Los anticuerpos que tienen sustituciones al menos en la posición del residuo de VH 103 de las secs. con núms. de ident.: 28, 31, 157 o 158, las posiciones de los residuos de VL 30, 31, 32, 50,

91-94 o 96 de las secs. con núms. de ident.: 35, 39, 40, 42, 46, 52, 53, 54, 71, 73, 75 o 135, y las posiciones de los residuos de VL 30, 31, 32, 50, 51, 92-95 o 97 de las secs. con núms. de ident.: 57, 61, 62, 68 y 150 resultan en anticuerpos que tienen una potencia mejorada cuando se compara con el anticuerpo IFWM371 parental.

5

Sec. con núm. de ident.: 118

QSIX₁X₂X₃X₄; en donde

X₁ es G, D, A, R, E, S, o N;

10 X₂ es D, G, N, S, R, E o K;

X₃ es F, A, N, T, S o V;

X₄ es Y, N o se suprime.

Sec. con núm. de ident.: 119

15 X₅AS; en donde

X₅ es F, W o G.

Sec. con núm. de ident.: 120

QQX₆X₇X₈X₉PX₁₀T; en donde

20 X₆ es A, G, S o W;

X₇ es L, Y, H, W, F o I;

X₈ es D o S;

X₉ es F, T, L, N o W; y

X_{10} es L, F o I.

Sec. con núm. de ident.: 114

$IX_{11}X_{12}$ SDSDT; en donde

X_{11} es D o A; y

5 X_{12} es P o A.

Sec. con núm. de ident.: 121

ARHPGLX₁₃WAPDFDY; en donde

X_{13} es A o N.

10

Sec. con núm. de ident.: 109

GYSFTSYW

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
 15 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas
 más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos
 de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de
 ident.: 109, 114, 121, 159, 119 y 160, respectivamente.

Los ejemplos de estos anticuerpos son los anticuerpos IFWM3400,
 20 IFWM3321, IFWM3522, IFWM3524, IFWM3320, IFWM3304, IFWM3520,
 IFWM3399, IFWM3314, IFWM3331, IFWM3405, IFWM3442, IFWM3525,
 IFWM3423, IFWM3444 e IFWM3421. Estos anticuerpos neutralizan el IFN- ω
 humano y al menos seis subtipos de IFN- α con un valor de IC₅₀ de

aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, y comprenden una secuencia de aminoácidos consenso de LCDR1 (sec. con núm. de ident.: 159), LCDR2 (sec. con núm. de ident.: 119), LCDR3 (sec. con núm. de ident.: 160), HCDR2 (sec. con núm. de ident.: 114) y HCDR3 (sec. con núm. de ident.: 121) y una secuencia de

5 aminoácidos constante de HCDR1 (sec. con núm. de ident.: 109).

Sec. con núm. de ident.: 159

QSIX₁₄X₁₅X₁₆X₁₇; en donde

10 X₁₄ es G, D, A, E, S, o N;

X₁₅ es D, G, N, S o R;

X₁₆ es F, A, N, S o V; y

X₁₇ es Y, N o se suprime.

15 Sec. con núm. de ident.: 160

QQX₁₈X₁₉X₂₀X₂₁PX₂₂T; en donde

X₁₈ es A, G o S;

X₁₉ es Y, H, W o F;

X₂₀ es D o S;

20 X₂₁ es F, T, L o W; y

X₂₂ es L, F o I.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 114, 121, 161, 119 y 162, respectivamente.

Los ejemplos de estos anticuerpos son los anticuerpos IFWM3405, IFWM3442, IFWM3525, IFWM3423, IFWM3444 e IFWM3421. Estos anticuerpos neutralizan el IFN- ω humano y al menos menos diez subtipos de IFN- α con un valor de IC₅₀ de al menos aproximadamente 2×10^{-10} M o menos, aproximadamente $1,5 \times 10^{-10}$ M o menos, o aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, y comprenden una secuencia consenso de LCDR1 (sec. con núm. de ident.: 161), LCDR2 (sec. con núm. de ident.: 119), LCDR3 (sec. con núm. de ident.: 162), HCDR2 (sec. con núm. de ident.: 114) y HCDR3 (sec. con núm. de ident.: 121), y una secuencia constante de HCDR1 (sec. con núm. de ident.: 109).

Sec. con núm. de ident.: 161

QSIX₂₃X₂₄X₂₅X₂₆; en donde

X₂₃ es A o D;

X₂₄ es N o G;

X₂₅ es F, N o S; y

X₂₆ es Y, N o se suprime.

Sec. con núm. de ident.: 162

QQX₂₇X₂₈X₂₉X₃₀PX₃₁T; en donde

X₂₇ es G o S;

X₂₈ es Y;

5 X₂₉ es D;

X₃₀ es F, T o L; y

X₃₁ es L, F o I.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
10 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más
abajo, el anticuerpo de la invención neutraliza el IFN- ω humano y al menos diez
subtipos de IFN- α humano seleccionados del grupo que consiste en IFN- α A, IFN- α B2,
IFN- α C, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α I, IFN- α J1, IFN- α K, IFN- α WA e IFN- α 4a.

En algunas modalidades de la invención descritas en la presente
15 descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades
enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo neutraliza el IFN- ω humano y
al menos los subtipos de IFN- α humano IFN- α A, IFN- α B2, IFN- α C, IFN- α F, IFN-
 α G, IFN- α H2, IFN- α J1 e IFN- α 4a.

En algunas modalidades de la invención descritas en la presente descripción, y
20 en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas
mencionadas más abajo, el anticuerpo no se une a o neutraliza IFN- α D o IFN- α 1.

En algunas modalidades de la invención descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo no se une a o neutraliza IFN- β .

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende

la secuencia de aminoácidos de HCDR1 de la sec. con núm. de ident.: 109;

la secuencia de aminoácidos de HCDR2 de las secs. con núms. de ident.: 111, 112 o 113;

la secuencia de aminoácidos de HCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 115 o 116;

la secuencia de aminoácidos de LCDR1 de las secs. con núms. de ident.: 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90 o 91;

la secuencia de aminoácidos de LCDR2 de las secs. con núms. de ident.: 93, 94 o 95; y

la secuencia de aminoácidos de LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106 o 107.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.:

a) 109, 113, 116, 77, 93 y 104, respectivamente;

b) 109, 113, 116, 85, 93 y 96, respectivamente;

- c) 109, 113, 115, 79, 95 y 107, respectivamente;
- d) 109, 113, 116, 76, 93 y 103, respectivamente;
- e) 109, 113, 115, 85, 93 y 96, respectivamente;
- f) 109, 113, 115, 89, 95 y 100, respectivamente;
- 5 g) 109, 113, 116, 86, 93 y 105, respectivamente;
- h) 109, 113, 115, 76, 93 y 103, respectivamente;
- i) 109, 113, 116, 80, 93 y 97, respectivamente;
- j) 109, 113, 116, 84, 93 y 97, respectivamente;
- k) 109, 113, 116, 90, 93 y 97, respectivamente;
- 10 l) 109, 113, 116, 88, 93 y 102, respectivamente;
- m) 109, 113, 116, 87, 93 y 105, respectivamente;
- n) 109, 113, 116, 91, 93 y 106, respectivamente;
- o) 109, 113, 115, 80, 93 y 97, respectivamente;
- p) 109, 113, 116, 83, 93 y 101, respectivamente;
- 15 q) 109, 113, 116, 82, 94 y 98, respectivamente;
- r) 109, 113, 115, 78, 95 y 100, respectivamente;
- s) 109, 111, 116, 81, 93 y 106, respectivamente;
- t) 109, 113, 116, 82, 94 y 99, respectivamente;
- u) 109, 113, 115, 81, 93 y 106, respectivamente;
- 20 v) 109, 112, 116, 81, 93 y 106, respectivamente; o
- w) 109, 113, 116, 81, 93 y 106, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas

más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 116, 77, 93 y 104, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
5 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 116, 85, 93 y 96, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
10 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 115, 79, 95 y 107, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
15 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 116, 76, 93 y 103, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
20 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 115, 85, 93 y 96, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 115, 89, 95 y 100, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 116, 86, 93 y 105, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 115, 76, 93 y 103, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 116, 80, 93 y 97, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos

de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 116, 84, 93 y 97, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas
5 más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 116, 90, 93 y 97, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas
10 más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 116, 88, 93 y 102, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas
15 más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 116, 87, 93 y 105, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas
20 más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 116, 91, 93 y 106, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 115, 80, 93 y 97, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 116, 83, 93 y 101, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 116, 82, 94 y 98, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 115, 78, 95 y 100, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos

de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 111, 116, 81, 93 y 106, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas
5 más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 116, 82, 94 y 99, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas
10 más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 115, 81, 93 y 106, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas
15 más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 112, 116, 81, 93 y 106, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas
20 más abajo, el anticuerpo de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 113, 116, 81, 93 y 106, respectivamente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo comprende la VH y la VL en donde la VH comprende la secuencia de aminoácidos de las secs. con núms. de ident.: 28, 31, 157 o 158.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo comprende la VH y la VL, en donde la VL comprende la secuencia de aminoácidos de las secs. con núms. de ident.: 35, 39, 40, 42, 46, 52, 53, 54, 57, 61, 62, 68, 71, 73, 75, 135 o 150.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo comprende las VH de las secs. con núms. de ident.: 28, 31, 157 o 158, y la VL de las secs. con núms. de ident.: 35, 39, 40, 42, 46, 52, 53, 54, 57, 61, 62, 68, 71, 73, 75, 135 o 150.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende la VH y la VL de las secs. con núms. de ident.: 28 y 40, 28 y 39, 31 y 62, 54 y 28, 31 y 39, 31 y 68, 28 y 42, 54 y 31, 28 y 53, 28 y 73, 28, y 75, 28 y 52, 28 y 35, 28 y 135, 31 y 53, 28 y 46, 28 y 61,
20 31 y 57, 157 y 71, 28 y 150, 31 y 71, 158 y 71, o 28 y 71.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas

más abajo, el anticuerpo comprende la VH y la VL, en donde la VH comprende la secuencia de aminoácidos de las secs. con núms. de ident.: 28, 30, 31, 157 o 158.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas

5 más abajo, el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de la VH de las secs. con núms. de ident.: 28, 30, 31, 157 o 158, y las secuencias de aminoácidos de LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de la VL de las secs. con núms. de ident.: 29, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 10 70, 71, 73, 74, 75, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 74, 148, 149, 150, 151, 152 o 153, en donde las CDR se definen de acuerdo con Kabat, Chothia y/o IMGT.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas

15 más abajo, el anticuerpo comprende la VH y la VL, en donde la VL comprende la secuencia de aminoácidos de las secs. con núms. de ident.: 29, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 73, 74, 75, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 20 143, 144, 145, 146, 147, 74, 148, 149, 150, 151, 152 o 153.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo comprende la VH y la VL, en donde la VH comprende la

secuencia de aminoácidos de las secs. con núms. de ident.: 28, 30, 31, 157 o 158, y la VL comprende la secuencia de aminoácidos de las secs. con núms. de ident.: 29, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 73, 74, 75, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 74, 148, 149, 150, 151, 152 o 153.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 29.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 32.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 33.

En alguna modalidad descrita en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas mencionadas más abajo, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 34.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 35.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 36.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 37.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 38.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 39.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a

continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 40.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
5 continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 41.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
10 ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 42.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 43.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 44.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
20 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 45.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 46.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 47.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 48.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 49.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 50.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a

continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 51.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
5 continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 52.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
10 ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 53.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 54.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 55.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
20 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 56.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 57.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 58.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 59.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 60.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 61.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a

continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 62.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
5 continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 63.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
10 ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 64.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 65.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 66.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
20 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 67.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 68.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 69.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 32.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 33.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 34.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a

continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 35.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
5 continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 36.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
10 ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 37.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 38.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 39.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
20 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 40.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 41.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 42.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 43.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 44.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 45.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a

continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 46.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
5 continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 47.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
10 ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 48.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 49.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 50.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
20 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 51.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 52.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 53.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 54.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 56.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 57.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a

continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 58.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
5 continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 59.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
10 ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 60.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 61.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 62.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
20 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 63.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 64.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 65.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 66.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 67.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 68.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a

continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 69.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
5 continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 32.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
10 ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 33.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 34.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 35.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
20 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 36.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 37.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 38.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 39.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 40.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 41.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a

continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 42.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
5 continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 43.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
10 ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 44.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 45.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 46.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
20 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 47.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 48.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 49.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 50.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 51.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 52.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a

continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 53.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
5 continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 54.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
10 ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 56.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 57.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 58.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
20 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 59.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 60.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 61.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 62.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 63.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 65.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a

continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 66.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
5 continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 67.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
10 ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 68.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 69.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 70.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
20 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 70.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 30 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 70.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 71.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 31 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 71.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 123.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 124.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a

continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 125.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
5 continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 126.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
10 ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 127.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 128.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 129.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
20 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 130.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 131.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 132.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 133.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 134.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 135.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a

continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 136.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
5 continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 137.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
10 ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 138.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 139.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 140.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
20 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 141.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 73.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 142.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 143.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 74.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 75.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a

continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 144.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
5 continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 145.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
10 ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 146.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de
ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 147.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 148.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
20 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 149.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 150.

5 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 151.

10 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 152.

15 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 153.

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 157 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 71.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a

continuación, el anticuerpo de la invención comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 158 y la VL de la sec. con núm. de ident.: 71.

Las variantes de los anticuerpos anti-IFN- ω /a de la invención que comprenden las secuencias de aminoácidos de VH o VL mostradas en la Tabla 9, la Tabla 13, la Tabla 15, la Tabla 17, la Tabla 19 y la Tabla 21 están dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, las variantes pueden comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 sustituciones de aminoácidos en la VH y/o VL que no afectan adversamente las propiedades del anticuerpo. En algunas modalidades, la identidad de secuencia puede ser de aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % con una VH o la secuencia de aminoácidos de VL de la invención. El porcentaje de identidad puede determinarse, por ejemplo, mediante la alineación de pares con el uso de las configuraciones predeterminadas del módulo AlignX del vector NTI v.9.0.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA). Las modificaciones ilustrativas son, por ejemplo, sustituciones conservadoras de aminoácidos en el sitio de unión al antígeno o en el marco sin alterar adversamente las propiedades del anticuerpo. Las sustituciones conservadoras pueden efectuarse para mejorar las propiedades del anticuerpo, por ejemplo, estabilidad o afinidad. Las sustituciones conservadoras son aquellas que tienen lugar dentro de una familia de aminoácidos que están relacionados en sus cadenas laterales. Los aminoácidos genéticamente codificados pueden dividirse en cuatro familias: (1) ácidos (aspartato, glutamato); (2) básicos (lisina, arginina, histidina); (3) no polares (alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano); y (4) polares sin carga (glicina, asparagina, glutamina, cisteína, serina, treonina, tirosina). Las fenilalanina, triptófano, y tirosina se clasifican algunas

veces conjuntamente como aminoácidos aromáticos. Alternativamente, el repertorio de aminoácidos puede agruparse como (1) ácido (aspartato, glutamato); (2) básico (lisina, arginina, histidina), (3) alifáticos (glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina), con la serina y treonina opcionalmente agrupadas separadamente como alifáticos-hidroxilo; (4) aromáticos (fenilalanina, tirosina, triptófano); (5) amidas (asparagina, glutamina); y (6) que contienen azufre (cisteína y metionina) (Stryer (ed.), Biochemistry, 2da ed, WH Freeman and Co., 1981). Además, cualquier residuo nativo en el polipéptido puede sustituirse, adicionalmente, con alanina, como se describió previamente para la mutagénesis de barrido de alanina (MacLennan y colaboradores (1998) *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 643:55-67; Sasaki y colaboradores (1998) *Adv. Biophys.* 35:1-24). Las sustituciones de aminoácidos deseadas pueden determinarse por aquellos con experiencia en la materia en el momento en que se desean tales sustituciones. Las variantes de los anticuerpos resultantes pueden probarse por sus características con el uso de los ensayos descritos en la presente.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo anti-IFN- γ de la invención comprende una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (VH) idéntica al menos en un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la sec. con núm. de ident.: 28 y secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (VL) idénticas en al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la sec. con núm. de ident.: 71.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo anti-IFN- γ de la invención comprende una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (VH) idéntica al menos en un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la sec. con
5 núm. de ident.: 28 y secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (VL) idénticas en al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la sec. con núm. de ident.: 150.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
10 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo anti-IFN- α/ω de la invención comprende una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (VH) idéntica en al menos 95 % a la sec. con núm. de ident.: 28 y secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (VL) idénticas en al menos 95 % a la sec. con núm de ident.: 71.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas
15 modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo anti-IFN- α/ω de la invención comprende una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (VH) idéntica en al menos 95 % a la sec. con núm. de ident.: 28 y secuencias de aminoácidos de la región variable de la
20 cadena ligera (VL) idénticas en al menos 95 % a la sec. con núm de ident.: 150.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo anti-IFN- α/ω de la invención comprende una secuencia de

aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (VH) idéntica en al menos 97 % a la sec. con núm. de ident.: 28 y secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (VL) idénticas en al menos 97 % a la sec. con núm de ident.: 71.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo anti-IFN- α/ω de la invención comprende una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (VH) idéntica en al menos 97 % a la sec. con núm. de ident.: 28 y secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (VL) idénticas en al menos 97 % a la sec. con núm de ident.: 150.

Las sustituciones de aminoácidos se pueden hacer, por ejemplo, por mutagénesis por PCR (patente de los EE. UU. núm. 4.683.195). Alternativamente, se pueden generar genotecas de variantes con el uso de métodos conocidos, por ejemplo, por el uso de codones aleatorios (NNK) o no-aleatorios, por ejemplo, codones DVK, que codifican 11 aminoácidos (Ala, Cys, Asp, Glu, Gly, Lys, Asn, Arg, Ser, Tyr, Trp) y el análisis de genotecas para variantes con propiedades deseadas.

Aunque las modalidades ilustradas en los ejemplos comprenden pares de regiones variables, una de una cadena pesada y otra de una cadena ligera, alguien con experiencia en la materia reconocerá que las modalidades alternativas pueden comprender regiones variables individuales de cadena pesada o ligera. La región variable individual se puede usar para tamizar dominios variables capaces de formar un fragmento de unión al antígeno específico de dos dominios capaz de, por ejemplo, unirse al IFN- ω humano o a varios subtipos de IFN- α humano. El tamizado se puede realizar mediante métodos de tamizado por exposición de fagos por el uso de por

ejemplo, un enfoque combinatorio dual jerárquico descrito en la publicación internacional de patente núm. WO92/01047. En este enfoque, una colonia individual que contenga, ya sea un clon de la cadena H o L se usa para infectar a una genoteca completa de clones que codifican la otra cadena (L o H), y el dominio de unión al antígeno específico de dos cadenas resultante se selecciona de acuerdo con las técnicas de exposición de fagos según se describe. Por lo tanto, las cadenas polipeptídicas individuales VH y VL que son útiles para identificar anticuerpos adicionales que se unen específicamente al IFN- ω humano o a varios subtipos del IFN- α por el uso de los métodos descritos en la publicación internacional de patente núm. WO92/01047.

Los anticuerpos de la invención se pueden elaborar por medio del uso de una variedad de tecnologías para generar anticuerpos. Por ejemplo, el método del hibridoma de Kohler y Milstein, *Nature* 256:495, 1975 se pueden usar para generar anticuerpos monoclonales. En el método del hibridoma, un ratón u otro animal huésped, tales como un hámster, rata o mono, se inmuniza con el IFN- ω humano y/o varios subtipos del IFN- α o fragmentos de estas proteínas, seguido de la fusión con células de bazo a partir de animales inmunizados con las células de mieloma por el uso de métodos estándares para formar células de hibridoma (Goding, *AMonoclonal Antibodies: Principles and Practice*, págs.59-103 (Academic Press, 1986)). Las colonias que surgen a partir de células de hibridoma inmortalizadas individuales se analizan para la producción de anticuerpos con las propiedades deseadas, tales como especificidad de unión, reactividad cruzada o ausencia de esta, y afinidad por el antígeno.

Varios animales huésped se pueden usar para producir los anticuerpos IFN- α/ω de la invención. Por ejemplo, se pueden usar ratones Balb/c para generar

anticuerpos IFN- α/ω anti-humano de ratón. Los anticuerpos que se hacen en ratones Balb/c y otros animales no humanos se pueden humanizar por el uso de varias tecnologías para generar secuencias más parecidas a las humanas. Las técnicas de humanización ilustrativas que incluyen la selección de marcos aceptores humanos se conocen por los expertos en la materia e incluyen el injerto de CDR (patente de EE. UU. núm. 5.225.539), el injerto de SDR (patente de EE. UU. núm. 6.818.749), renovación de superficie (Padlan, Mol Immunol 28:489-499, 1991), renovación de superficie de los residuos que determinan la especificidad (publicación de patente de EE. UU. núm. 20100261620), adaptación humana (o adaptación al marco humano) (publicación de patente de EE. UU. núm US2009/0118127), la superhumanización (patente de EE. UU. núm. 7.709.226) y la selección guiada (Osbourn y colaboradores (2005) *Methods* 36:61-68, 2005; patente de EE. UU. núm. 5,565,332).

Los anticuerpos humanizados se pueden optimizar para mejorar su selectividad o la afinidad para un antígeno deseado mediante la incorporación de residuos de soporte de un marco alterado para preservar la afinidad de unión (mutaciones hacia atrás) mediante técnicas tales como aquellas descritas como se describe en la publicación internacional de patente núm. WO90/007861, y en la publicación internacional de patente núm. WO92/22653.

Se pueden usar ratones transgénicos que portan los loci de inmunoglobulina humana (Ig) en su genoma para generar anticuerpos humanos contra una proteína objetivo, y se describen por ejemplo, en la publicación internacional de patente núm. WO90/04036, patente de EE. UU. núm. 6150584, publicación internacional de patente núm. WO99/45962, publicación internacional de patente núm.

WO02/066630, publicación internacional de patente núm. WO02/43478, Lonberg y colaboradores (1994) *Nature* 368:856-9; Green y colaboradores (1994) *Nature Genet.* 7:13-21; Green & Jakobovits (1998) *Exp. Med.* 188:483-95; Lonberg y Huszar (1995) *Int. Rev. Immunol.* 13:65-93; Bruggemann y colaboradores (1991) *Eur. J. Immunol.* 21:1323- 1326; Fishwild y colaboradores (1996) *Nat. Biotechnol.* 14:845-851; Mendez y colaboradores (1997) *Nat. Genet.* 15:146-156; Green (1999) *J. Immunol. Methods* 231:11-23; Yang y colaboradores (1999) *Cancer Res.* 59:1236-1243; Bruggemann and Taussig (1997) *Curr. Opin. Biotechnol.* 8:455-458; publicación de patente de los EE. UU. núm. WO02/043478). Los loci de

inmunoglobulinas endógenas en esos ratones se pueden interrumpir o suprimir, y al menos un locus de inmunoglobulina humana total o parcial se puede insertar en el genoma de ratón por el uso de la recombinación homóloga o no homóloga, por el uso de transcromosomas, o por el uso de minigenes. Compañías como Regeneron (http://_www_regeneron_com), Harbour Antibodies (http://_www_harbourantibodies_com), Open Monoclonal Technology, Inc. (OMT) (http://_www_omtinc_net), KyMab (http://_www_kymab_com), Trianni (http://_www.trianni_com) y Ablexis (http://_www_ablexis_com) se pueden comprometer a proporcionar anticuerpos humanos dirigidos contra un antígeno seleccionado por el uso de la tecnología, tal como se describió anteriormente.

Los anticuerpo humanos se pueden seleccionar a partir de una genoteca de exposición de fagos, en donde el fago se diseña por ingeniería genética para expresar inmunoglobulinas humanas o porciones de estas, tales como Fab, anticuerpos de cadena sencilla (scFv), o regiones variables de anticuerpos pareados o no pareados

(Knappik y colaboradores (2000) *J. mol. Biol.* 296:57-86; De Krebs y colaboradores (2001) *J. Immunol. Meth.* 254:67-84; Vaughan y colaboradores (1996) *Nature Biotechnology* 14:309-314; Sheets y colaboradores (1998) *PITAS (USA)* 95:6157-6162; Hoogenboom and Winter, (1991) *J. Mol. Biol.* 227:381; Marks y colaboradores (1991) *J. Mol. Biol.* 222:581). Los anticuerpos de la invención se pueden aislar por ejemplo, a partir de genotecas de exposición en fagos que expresan las regiones variables de las cadenas pesada y ligera de anticuerpos como proteínas de fusión con la proteína de cubierta pIX de bacteriófagos como se describe en Shi y colaboradores (2010) *J. Mol. Biol.* 397:385-96 y la publicación internacional de patente núm. WO09/085462). Las genotecas se pueden tamizar por la unión de los fagos al IFN- ω e IFN- α y los clones positivos obtenidos se pueden caracterizar aún más, los Fabs se aíslan a partir de los lisados de clones, y se expresan como IgGs en toda su extensión. Tales métodos de exposición en fagos para aislar anticuerpos humanos se describen, por ejemplo, en: patentes de EE. UU. núms. 5.223.409; 5.403.484; y 5.571.698 de Ladner y colaboradores; patentes de EE. UU. núms. 5.427.908 y 5.580.717 de Dower y colaboradores; patentes de EE. UU. núms. 5.969.108 y 6.172.197 de McCafferty y colaboradores; patentes de EE. UU. núms. 5.885.793; 6.521.404; 6.544.731; 6.555.313; 6.582.915 y 6.593.081 de Griffiths y colaboradores.

La preparación de antígenos inmunogénicos y la producción del anticuerpo monoclonal se pueden realizar por el uso de cualquier técnica adecuada, tal como la producción de proteínas recombinantes. Los antígenos inmunogénicos se pueden administrar a un animal en la forma de proteína purificada, o mezclas de proteínas que incluyen células completas o extractos de tejidos o células, o el

antígeno se puede formar *de novo* en el cuerpo del animal a partir de ácidos nucleicos que codifican dicho antígeno o una porción de este.

En un método ilustrativo, las genotecas de exposición de fagos se pueden panoramizar contra el IFN- α 2 humano biotinilado o el IFN- α G humano biotinilado.

5 Después de tres rondas de panoramización, se puede realizar un ELISA de fago policlonal por el uso de los IFN- α 2, IFN- α G e IFN- ω como antígenos para detectar el enriquecimiento específico de los experimentos de panoramización individuales. El fago que demuestra un enriquecimiento para aglutinantes a IFN- α 2, IFN- α G e IFN- ω se pueden recolectar y tamizarse adicionalmente en un ensayo ELISA
10 estándar por la unión a subtipos adicionales de IFN- α en el formato de Fab. Los clones Fab identificados se pueden clonar para anticuerpos de longitud completa y se pueden caracterizar adicionalmente por su afinidad y habilidad de neutralización al IFN- ω humano y a varios subtipos del IFN- α por el uso del ensayo reportero de gen ISRE y ProteOn como se describe en la presente.

15 Los anticuerpos de la invención pueden ser humanos o humanizados.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, los anticuerpos al IFN- α / ω de la invención comprenden un marco de VH derivado del gen de la línea germinal humana IGHV5-51 (sec. con núm. de ident.: 155).

20 En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, los anticuerpos al IFN- α / ω de la invención comprenden un marco de

VL derivado del gen de la línea germinal humana IGKV1D-39 (sec. con núm. de ident.: 156).

Los anticuerpos de la invención descritos en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas
5 incluidas a continuación, pueden ser del de tipo IgA, IgD, IgE, IgG o IgM. Los anticuerpos de la invención pueden ser del tipo de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4.

Las propiedades inmunes efectoras de los anticuerpos de la invención se pueden amplificar o silenciar a través de modificaciones al Fc mediante técnicas conocidas por aquellos con experiencia en la materia. Por ejemplo, las funciones
10 efectoras del Fc tales como la unión a C1q, citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis, regulación negativa de los receptores de superficie celular (por ejemplo, el receptor de las células B; BCR), etc. se pueden proporcionar y/o controlar mediante la modificación de los residuos en el Fc responsables de estas actividades.

15 Las propiedades farmacocinéticas de los anticuerpos de la invención se pueden amplificar mutando los residuos en el dominio Fc que extiende el tiempo de vida medio del anticuerpo (Strohl (2009) Curr Opin Biotechnol 20:68 5 - 91). Las modificaciones ilustrativas del Fc son IgG4 S228P/L234A/L235A, IgG2 M252Y/S254T/T256E (Dall'Acqua, y colaboradores (2006) *J. Biol. Chem.* 281:23514-
20 24; o IgG2 V234A/G237A/P238S, V234A/G237A/H268Q, H268A/V309L/A330S/P331 o V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S en IgG2 (publicación internacional de patente. núm. WO11/066501), de las descritas en la patente de EE. UU. núm. 6.737.056. (numeración de residuos de acuerdo con la numeración de EU).

Adicionalmente, los anticuerpos de la invención descritos en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, se pueden modificar post-traslacionalmente mediante procesos tales como glicosilación, isomerización, desglicosilación o modificación covalente de origen no natural, como la adición de porciones de polietilenglicol (pegilación) y lipidación. Dichas modificaciones pueden ocurrir *in vivo* o *in vitro*. Por ejemplo, los anticuerpos de la invención se pueden conjugar con polietilenglicol (PEGilado) para mejorar sus perfiles farmacocinéticos. La conjugación se puede realizar mediante técnicas conocidas por aquellos con experiencia en la materia. La conjugación de anticuerpos terapéuticos con PEG se ha demostrado que amplifica la farmacodinámica mientras que no interfiere con la función (Knigh y colaboradores (2004) *Platelets* 15:409-18; Leong y colaboradores (2001) *Cytokine* 16:106-19; Yang y colaboradores (2003) *Protein Eng.* 16:761-70).

Los anticuerpos o fragmentos de estos de la invención modificados para mejorar la estabilidad, selectividad, reactividad cruzada, afinidad, inmunogenicidad u otras propiedades biológicas o biofísicas deseables están dentro del alcance de la invención. La estabilidad de un anticuerpo está influenciada por un número de factores, que incluyen (1) el empaquetamiento del núcleo de los dominios individuales que afectan su estabilidad intrínseca, (2) las interacciones de la interfaz proteína/proteína que tienen un impacto sobre el apareamiento HC y LC, (3) entierro de residuos polares y cargados, (4) la red de enlace de H para los residuos polares y cargados; y (5) la carga superficial y la distribución de residuos polares entre otras fuerzas intra e intermoleculares (Worn y colaboradores (2001) *J.*

mol. Biol. 305:989-1010). Los residuos potenciales desestabilizadores de la estructura se pueden identificar en base a la estructura cristalina de los anticuerpos o, en ciertos casos, por modelación molecular, y el efecto de los residuos en la estabilidad del anticuerpo se puede probar mediante la generación y evaluación de las variantes que portan mutaciones en los residuos identificados. Una de las formas para aumentar la estabilidad de los anticuerpos es elevar el punto medio de transición térmica (T_m), según se mide por calorimetría de barrido diferencial (DSC). Generalmente, la T_m de la proteína se correlaciona con la estabilidad y se correlaciona inversamente con la susceptibilidad al despliegue y la desnaturalización en la disolución y los procesos de degradación que dependen de la tendencia de la proteína a desplegarse (Remmele y colaboradores (2000) *Biopharm* 13:36-46,). Una serie de estudios ha encontrado una correlación entre la clasificación de la estabilidad física de las formulaciones medidas como la estabilidad térmica por DSC y la estabilidad física medida por otros métodos (Gupta y colaboradores (2003) *AAPS PharmSci* 5E8; Zhang y colaboradores (2004) *J. Pharm. Sci.* 93:3076-89; Maa y colaboradores (1996) *Int. J. Pharm.* 140:155-68; Bedu-Addo y colaboradores (2004) *Pharm. Res.* 21:1353-61; Remmele y colaboradores (1997) *Pharm. Res.* 15:200-8). Los estudios de formulación sugieren que la T_m de un Fab tiene implicaciones para la estabilidad física a largo plazo del mAb correspondiente. Las diferencias en aminoácidos tanto en el marco o dentro de las CDR pueden tener efectos significativos sobre la estabilidad térmica del dominio Fab (Yasui y colaboradores (1994) *FEBS Lett.* 353:143-6).

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención compite con la unión al IFN- ω humano con un anticuerpo aislado que comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y
5 la VL de la sec. con núm. de ident.: 71.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención compite con la unión al IFN- ω humano con un anticuerpo aislado que comprende la VH de la sec. con núm. de ident.: 28 y
10 la VL de la sec. con núm. de ident.: 150.

La competencia entre la unión específica al IFN- ω humano con anticuerpos de la invención que comprenden ciertas secuencias VH y VL se pueden ensayar *in vitro* con el uso de métodos muy conocidos. Por ejemplo, la unión del anticuerpo marcado con éster NHS MSD sulfo-Tag™ al IFN- ω humano en presencia de un
15 anticuerpo no marcado se puede evaluar por ELISA, o se puede usar el análisis Bioacore o la citometría de flujo para demostrar la competencia con los anticuerpos de la presente invención.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a
20 continuación, el anticuerpo de la invención se une a, y neutraliza una actividad biológica de un interferón omega (IFN- ω) humano y al menos a tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos del interferón alfa (IFN- α) humano, en

donde el anticuerpo se une al IFN- ω de la sec. con núm. de ident.: 1 al menos en los residuos F27, L30 y R33 de.

Los residuos F27, L30 y R33 del IFN- ω define un epítipo mínimo requerido para la neutralización amplia de la actividad de los anticuerpos IFN- α/ω de la invención. La estructura cristalina de varios complejos anticuerpo/IFN- α o anticuerpo/IFN- ω reveló los tres residuos que proporcionan contribuciones predominantes a la unión del anticuerpo. El residuo F27 se conserva en todos los IFN- α humanos excepto en el IFN- α D (α 1), al cual no se unen los anticuerpos de la invención. Ambos L30 y R33 están conservados en todos los IFN- α humanos así como en el IFN- ω humano. La confirmación adicional de la contribución de F27 al epítipo se evidencia a partir de los estudios de unión con varios subtipos de IFN- α de cino: los anticuerpos de la invención no se unen al IFN- α 13 de cino, que, al igual que el IFN- α D humano, tiene una serina en la posición 27 (S27).

En otra modalidad descrita en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención se une al IFN- ω humano de la sec. con núm. de ident.: 1 al menos en los residuos S25, P26, F27, L28, L30, K31, R33, R34 y D35.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención se une a y neutraliza una actividad biológica del interferón omega (IFN- ω) humano y al menos a tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos del interferón alfa (IFN- α) humano, en donde el anticuerpo se une al IFN- ω humano de la sec. con núm. de ident.: 1 en uno o más residuos que incluyen F27.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, el anticuerpo de la invención es un anticuerpo biespecífico que se une a, y neutraliza una actividad biológica del interferón omega (IFN- ω) humano y al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos del interferón alfa (IFN- α) humano y se une a BLYS, CD40L, IL-6, CD27, BDCA2, IL-12, IL-23, IFN- α D, IL-17, CD20, IL-10, CD22, IL-21, ICOS, ICOSL o IFN- γ .

Dada la presencia del IFN- ω elevado en los pacientes con SLE, y la demostración que el IFN- ω puede inducir la secreción de BLYS en los PBMC *in vitro*, el bloqueo combinado de IFN- α/ω en los pacientes con SLE puede ser más eficaz para reducir los niveles de BLYS en comparación con enfoques específicos anti IFN- α . El alcance de la firma de IFN y la actividad del IFN en los pacientes con SLE parecen correlacionarse con los niveles de BLYS soluble.

Los anticuerpos de IFN- α/ω de la invención descritos en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, se pueden crear por ingeniería en anticuerpos biespecíficos que también se encuentran dentro del alcance de la invención. Las regiones VL y/o VH de los anticuerpos de la invención se pueden diseñar por ingeniería por el uso de los métodos publicados en anticuerpos biespecíficos de cadena simple como estructuras tales como en diseños de TandAb® (publicación internacional de patente núm. WO99/57150; publicación de patente de los EE. UU. núm. US2011/0206672) o en scFV biespecíficas como estructuras tales como las que se describen en la patente de EE. UU. núm. US5869620; publicación de patente

de los EE. UU. núm. WO95/15388 publicación internacional de patente núm. WO97/14719 o publicación internacional de patente núm. WO11/036460.

Las regiones VL y/o VH de los anticuerpos de la invención se pueden convertir por ingeniería en anticuerpos biespecíficos de longitud completa, donde cada brazo
5 del anticuerpo se une a un antígeno o epítopo distinto. Tales anticuerpos biespecíficos se obtienen generalmente por medio de la modulación de las interacciones de CH3 entre las dos cadenas pesadas de los anticuerpos para formar anticuerpos biespecíficos por el uso de tecnologías tales como las descritas en la patente de EE. UU. núm. 7.695.936; publicación de patente de los EE. UU. núm. WO04/111233;
10 publicación de patente de los EE. UU. con serie núm. 2010/0015133; publicación de patente de los EE. UU. con serie núm. 2007/0287170; publicación de patente de los EE. UU. núm. WO2008/119353; publicación de patente de los EE. UU. con serie núm. 2009/0182127; publicación de patente de los EE. UU. con serie núm. 2010/0286374; publicación de patente de los EE. UU. con serie núm. 2011/0123532; publicación de
15 patente de los EE. UU. núm. WO2011/131746; publicación de patente de los EE. UU. núm. WO2011/143545; o publicación de patente de EE. UU. núm. 2012/0149876.

Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos de la invención se pueden generar *in vitro* en un ambiente libre de células al introducir mutaciones asimétricas en las regiones CH3 de dos anticuerpos homodiméricos monoespecíficos y formar el anticuerpo
20 heterodimérico biespecífico a partir de dos anticuerpos homodiméricos monoespecíficos parentales en condiciones reductoras para permitir la isomerización de enlaces disulfuro de acuerdo con los métodos descritos en la publicación internacional del patente núm. WO2011/131746. En los métodos, el primer anticuerpo bivalente monoespecífico (por

ejemplo, el anticuerpo anti-IFN- α/ω de la invención) y el segundo anticuerpo bivalente monoespecífico (por ejemplo, los anticuerpos anti-BLyS, anti-CD40L, anti-IL-6, anti-CD27, anti-bdca2, anti-IL-12, anti-IL-23, anti-IFN- α_d , anti-IL-17, anti-CD20, anti-IL-10, anti-CD22, anti-IL-21, anti-ICOS, anti-ICOSL o anti-IFN- γ) se diseñan por ingeniería

5 para tener ciertas sustituciones en el dominio CH3 que promueven la estabilidad heterodimérica; los anticuerpos se incuban juntos en condiciones reductoras suficientes para permitir que las cisteínas en la región bisagra experimenten isomerización de enlaces disulfuro; lo que genera así el anticuerpo biespecífico por intercambio de brazos Fab. Las condiciones de incubación pueden restaurarse óptimamente a no reductoras.

10 Los agentes reductores ilustrativos que pueden usarse son 2-mercaptoetilamina (2-MEA), ditioneitol (DTT), ditioneitol (DTE), glutatión, tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP), L-cisteína y beta-mercaptoetanol, preferentemente un agente reductor seleccionado del grupo que consiste en: 2-mercaptoetilamina, ditioneitol y tris(2-carboxietil)fosfina. Por ejemplo, puede usarse una incubación durante al menos 90 min a una temperatura de al

15 menos 20 °C en presencia de al menos 25 mM de 2-MEA o en presencia de al menos 0,5 mM de ditioneitol a un pH de 5-8, por ejemplo, a un pH de 7,0 o a un pH de 7,4.

Las mutaciones en CH3 ilustrativas que se pueden usar en una primera cadena pesada y en una segunda cadena pesada del anticuerpo biespecífico son las K409R y/o F405L.

20 Las estructuras biespecíficas adicionales dentro de las cuales se pueden incorporar las regiones VL y/o las regiones VH de los anticuerpos de la invención son por ejemplo, las inmunoglobulinas de dominio variable dual (DVD) (publicación internacional de patente núm. WO2009/134776), o estructuras que incluyen varios

dominios de dimerización para conectar los dos brazos del anticuerpo con especificidad diferente, tales como los dominios de dimerización de cremallera de leucina o colágeno (publicación internacional de patente núm. WO2012/022811, patente de EE. UU. núm. 5.932.448; patente de EE. UU. núm. 6.833.441). Los DVD
5 son anticuerpos de longitud completa que comprenden la cadena pesada que tiene una estructura VH1-enlazador-VH2-CH y la cadena ligera que tiene la estructura VL1-enlazador-VL2-CL; el enlazador es opcional.

La VH y la VL que se unen a BLYS, CD40L, IL-6, CD27, BDCA2, IL-12, IL-23, IFN- α D, IL-17, CD20, IL-10, CD22, IL-21, ICOS, ICOSL o IFN- γ para ser incorporadas
10 dentro de los anticuerpos anti-IFN- α/ω biespecíficos se pueden generar *de novo* por el uso de los métodos descritos en la presente descripción, o se pueden diseñarse por ingeniería a partir de los anticuerpos monoespecíficos existentes. El anticuerpo anti-BLYS ilustrativo que se puede usar para generar los anticuerpos biespecíficos de la invención es BENLYSTA®. Los anticuerpos de CD40L ilustrativos que se pueden usar
15 son aquellos descritos en la patente de EE. UU. núm. 5.474.771, patente de EE. UU. núm. 5.747.037, publicación internacional de patente núm. WO01/68860, publicación internacional de patente núm. WO06/033702 o publicación internacional de patente núm. WO08/118356 Los anticuerpos anti-IL-6 que se pueden usar son los descritos en la publicación internacional de patente núm. WO06/119115, publicación internacional
20 de patente núm. WO10/056948, publicación internacional de patente núm. WO10/088444 o publicación internacional de patente núm. WO07/076927 Los anticuerpos anti-CD27 que se pueden usar son los descritos en la publicación internacional de patente núm. WO13/138586, publicación internacional de patente

núm. WO11/130434 o publicación internacional de patente núm. WO12/004367 El anticuerpo de IL-12 e IL-23 ilustrativo que se puede usar es STELARA®. Los anticuerpos de IL-23 ilustrativos que se pueden usar son los descritos en la publicación internacional de patente núm. WO07/005955, publicación internacional de patente núm. WO07/027714, publicación internacional de patente núm. WO08/103432, publicación internacional de patente núm. WO07/106769, publicación internacional de patente núm. WO07/147019 o publicación internacional de patente núm.

WO08/134659 Los anticuerpos a IL-17 ilustrativos que se pueden usar son los descritos en la publicación internacional de patente núm. WO06/013107, publicación internacional de patente núm. WO06/054059, publicación internacional de patente núm. WO07/070750, publicación internacional de patente núm. WO08/134659, publicación internacional de patente núm. WO07/149032, publicación internacional de patente núm. WO08/021156, publicación internacional de patente núm. WO08/047134, publicación internacional de patente núm. WO09/130459, publicación internacional de patente núm. WO10/025400, publicación internacional de patente núm. WO11/053763 y publicación internacional de patente núm. WO12/095662.

Otra modalidad de la invención descrita en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, es un anticuerpo que se une a y neutraliza una actividad biológica del interferón omega (IFN- ω) humano y al menos a tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos de interferón alfa (IFN- α) humano que tienen ciertas secuencias de VH y VL, en donde la VH del anticuerpo es codificada por un primer polinucleótido y la VL del anticuerpo es codificada por un

segundo polinucleótido sintético. El polinucleótido puede ser un ácido desoxinucleico (ADNc), y puede optimizarse con codones para expresarse en el huésped adecuado. La optimización con codones es una tecnología bien conocida.

En algunas modalidades descritas en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, los polinucleótidos que codifican la VH o la VL del anticuerpo de la invención comprenden las secuencias de las secs. con núms. de ident.: 72, 92, 108, 110, 117 o 122.

Otra modalidad de la invención es un polinucleótido aislado que codifica cualquiera de las regiones variables de la cadena pesada del anticuerpo y/o las regiones variables de la cadena ligera del anticuerpo de la invención. Ciertos polinucleótidos ilustrativos se describen en la presente invención; sin embargo, otros polinucleótidos que, dada la degeneración del código genético o las preferencias de codones en un sistema de expresión dado, codifican los anticuerpos de la invención también se ubican dentro del alcance de la invención. Los polinucleótidos ilustrativos son, por ejemplo, los polinucleótidos que tienen las secuencias que se muestran en las secs. con núms. de ident.: 72, 92, 108, 110, 117 o 122. Las secuencias de polinucleótidos que codifican una VH o una VL, o un fragmento de estas del anticuerpo de la invención pueden unirse operativamente a uno o más elementos reguladores, tales como un promotor o potenciador, que permiten la expresión de la secuencia de nucleótidos en la célula huésped prevista. El polinucleótido puede ser un ADNc.

Otra modalidad de la invención es un vector que comprende el polinucleótido de la invención. Tales vectores pueden ser vectores plasmídicos, vectores virales,

vectores para la expresión de baculovirus, vectores basados en transposones o cualquier otro vector adecuado para introducir el polinucleótido sintético de la invención en un organismo o fondo genético dado por cualquier medio. Por ejemplo, los polinucleótidos que codifican las regiones variables de la cadena pesada y/o ligera de los anticuerpos de la invención, opcionalmente enlazados a regiones constantes, se insertan en vectores de expresión. Las cadenas ligeras y/o pesadas se pueden clonar en los mismos o diferentes vectores de expresión. Los segmentos de ADN que codifican cadenas de inmunoglobulina pueden unirse operablemente a las secuencias control en el(los) vector(es) de expresión que aseguran la expresión de los polipéptidos de inmunoglobulina. Tales secuencias de control incluyen secuencias señal, promotores (por ejemplo, promotores naturalmente asociados o heterólogos), elementos potenciadores, y secuencias de terminación de la transcripción, y se pueden seleccionar para ser compatibles con la célula huésped elegida para expresar el anticuerpo. Una vez que el vector se incorpora en el huésped apropiado, el huésped se mantiene bajo condiciones adecuadas para altos niveles de expresión de las proteínas codificadas por los polinucleótidos incorporados.

Los vectores de expresión adecuados son, típicamente, replicables en los organismos huéspedes ya sea como episomas o como parte integral del ADN cromosomal del huésped. Comúnmente, los vectores de expresión contienen marcadores de selección tales como resistencia a la ampicilina, resistencia a la higromicina, resistencia a la tetraciclina, resistencia a la canamicina o resistencia a la neomicina para permitir la detección de aquellas células transformadas con las secuencias de ADN deseadas.

Los elementos promotores y potenciadores adecuados son conocidos en la materia. Para la expresión en una célula bacteriana, los promotores ilustrativos incluyen *lacI*, *lacZ*, T3, T7, *gpt*, *lambda P* y *trc*. Para la expresión en una célula eucariota, los promotores ilustrativos incluyen elementos promotores y potenciadores del gen de la cadena pesada y/o ligera de inmunoglobulina; el promotor temprano inmediato del citomegalovirus; el promotor de la timidina cinasa del virus del herpes simple; los promotores temprano y tardío del SV40; el promotor presente en repeticiones terminales largas de retrovirus; el promotor de la metalotioneína-I de ratón; y varios promotores específicos de tejido conocidos en la materia. Para la expresión en una célula de levadura, un promotor ilustrativo es un promotor constitutivo tal como un promotor de ADH1, un promotor PGK1, un promotor ENO, un promotor PYK1 y los similares; o un promotor regulable tal como un promotor GAL1, un promotor GAL10, un promotor ADH2, un promotor PH05, un promotor CUP1, un promotor GAL7, un promotor MET25, un promotor MET3, un promotor CYC1, un promotor HIS3, un promotor ADH1, un promotor PGK, un promotor GAPDH, un promotor ADC1, un promotor TRP1, un promotor URA3, un promotor LEU2, un promotor ENO, un promotor TP1, y AOX1 (por ejemplo, para usar en *Pichia*). La selección del vector y el promotor apropiados se encuentra bien dentro del nivel de la experiencia ordinaria en la materia.

Una gran cantidad de vectores y promotores adecuados se conocen por aquellos con experiencia en la materia; muchos están disponibles comercialmente para generar uno de los constructos recombinantes en cuestión. Los siguientes vectores se proveen a título de ejemplo. Bacterianos: pBs, phagescript, PsiX174, pBluescript SK, pBs KS, pNH8a, pNH16a, pNH18a, pNH46a (Stratagene, La Jolla,

Calif., EE. UU.); pTrc99A, pKK223-3, pKK233-3, pDR540, y pRIT5 (Pharmacia, Uppsala, Suecia). Eucariotas: pWLneo, pSV2cat, pOG44, PXR1, pSG (Stratagene) pSVK3, pBPV, pMSG y pSVL (Pharmacia).

Otra modalidad de la invención es una célula huésped que comprende uno o
 5 más vectores de la invención. El término “célula huésped” se refiere a la célula dentro de la que se introduce un vector. Se entiende que el término célula huésped se refiere no solo a la célula particular en cuestión, sino también a la progenie de dicha célula, y también a la línea celular estable generada a partir de la célula particular en cuestión. Debido a que ciertas modificaciones pueden ocurrir en las generaciones venideras ya
 10 sea debido a una mutación o influencias del medio ambiente, la progenie puede no ser idéntica a la célula parental, pero todavía se incluyen en el alcance del término “célula huésped”, como se usa en la presente descripción. Tales células huéspedes pueden ser células eucariotas, células procariotas, células de plantas o células de arquea.

Los bacilos de *Escherichia coli*, tales como *Bacillus subtilis*, y otras
 15 enterobacterias, tales como *Salmonella*, *Serratia*, y varias especies de *Pseudomonas* son ejemplos de células huésped procariotas. Otros microbios, tales como levaduras, también son útiles en la expresión. *Saccharomyces* (por ejemplo, *S. cerevisiae*) y *Pichia* son ejemplos de células huésped de levaduras adecuadas. Las células eucariotas ilustrativas pueden ser de origen de mamífero, insecto, aves
 20 u otros animales. Las células eucariotas de mamíferos incluyen líneas celulares inmortalizadas, tales como líneas celulares de hibridomas o mieloma, tales como las líneas celulares de murinos SP2/0 (American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA, CRL-1581), NS0 (European Collection of Cell Cultures (ECACC),

Salisbury, Wiltshire, Reino Unido, ECACC núm. 85110503), FO (ATCC CRL-1646) y Ag653 (ATCC CRL-1580). Una línea celular ilustrativa de mieloma humano es U266 (ATTC CRL-TIB-196). Otras líneas celulares útiles incluyen las derivadas de células de ovario de hámster chino (CHO), tales como CHO-K1SV (Lonza

5 Biologics, Walkersville, MD), CHO-K1 (ATCC CRL-61) o DG44.

Otra modalidad de la invención es un método para producir un anticuerpo de la invención que comprende cultivar la célula huésped de la invención en unas condiciones en que se expresa el anticuerpo, y recuperar el anticuerpo producido por la célula huésped. Los métodos para preparar anticuerpos y purificarlos se

10 conocen bien en la materia. Una vez sintetizados (ya sea química o recombinantemente), los anticuerpos completos, sus dímeros, las cadenas pesada y/o ligeras individuales, u otros fragmentos de anticuerpos, tales como la VH y/o VL, se pueden purificar de acuerdo con procedimientos estándares, incluyendo la precipitación con sulfato de amonio, columnas de afinidad, cromatografía en

15 columna, purificación con cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), electroforesis en gel, y los similares (véase generalmente alcances, de Purificación de Proteínas (Springer - Verlag, N.Y., (1982)). Un anticuerpo en cuestión puede ser sustancialmente puro, por ejemplo, al menos aproximadamente entre un 80 % a 85 % puro, al menos aproximadamente entre un 85 % a 90 % puro, al menos

20 aproximadamente entre un 90 % a 95 % puro, o al menos aproximadamente entre un 98 % a 99 %, o más, puro, por ejemplo, libre de contaminantes tales como restos de células, macromoléculas, etc. distintos al anticuerpo en cuestión.

Otra modalidad de la invención es un método para producir un anticuerpo que se une a, y neutraliza una actividad biológica de un interferón omega (IFN- ω) humano y al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once interferón alfa (IFN- α) humanos que comprende:

- 5 Incorporar el primer polinucleótido que codifica la VH del anticuerpo y el segundo polinucleótido que codifica la VL del anticuerpo en un vector de expresión; transformar una célula huésped con el vector de expresión; cultivar la célula huésped en el medio de cultivo bajo condiciones en donde las VL y VH se expresan y forman el anticuerpo; y
- 10 recuperar el anticuerpo de la célula huésped o el medio de cultivo.

Los polinucleótidos que codifican ciertas secuencias de VH o VL de la invención se incorporan en vectores con el uso de métodos estándares de biología molecular. La transformación de la célula huésped, el cultivo, la expresión y purificación del anticuerpo se realizan con el uso de métodos muy conocidos.

15

Métodos de tratamiento

- Los anticuerpos de IFN- α/ω de la invención se pueden usar en el tratamiento de las enfermedades inflamatorias mediadas por el sistema inmune o enfermedades autoinmunes tales como lupus, incluido el lupus eritematoso sistémico (SLE) o lupus
- 20 eritematoso cutáneo (CLE), o de otras enfermedades inflamatorias mediadas por el sistema inmune, tales como la psoriasis, la trombocitopenia inmune (ITP), el síndrome de Aicardi-Goutieres (AGS), la esclerosis sistémica, el síndrome de Sjögren, la miositis, la deficiencia inmune variable común (CVID), la enfermedad de

tiroides autoinmune, la diabetes tipo I, la artritis reumatoide, el rechazo a trasplantes o la enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD). Estas enfermedades pueden estar asociadas con una mayor producción de IFN- α /o IFN- ω de tipo I.

Una modalidad de la invención es un método para tratar un enfermedad
5 inflamatoria mediada por el sistema inmune o una enfermedad autoinmune, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo aislado que se une a, y neutraliza una actividad biológica del interferón omega (IFN- ω) humano y al menos a tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u
10 once subtipos del interferón alfa (IFN- α) humano a un paciente que necesita de éste por un tiempo suficiente para tratar la enfermedad inflamatoria mediada por el sistema inmune o las enfermedades autoinmunes.

Otra modalidad de la invención es un método para tratar el lupus, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo aislado que se une a, y neutraliza una actividad biológica del interferón omega
15 (IFN- ω) humano y al menos a tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos del interferón alfa (IFN- α) humano a un paciente que necesita de éste por un tiempo suficiente para tratar lupus.

En algunas modalidades, el lupus es lupus sistémico eritematoso (SLE) o lupus eritematoso cutáneo (CLE).

20 En algunas modalidades, el paciente tiene nefritis lúpica.

En algunas modalidades, la enfermedad inflamatoria mediada por el sistema inmune o la enfermedad autoinmune es psoriasis, trombocitopenia inmune (ITP), síndrome de Aicardi-Goutieres (AGS), esclerosis sistémica, síndrome de Sjögren,

miositis, deficiencia inmune variable común (CVID), enfermedad de tiroides autoinmune, diabetes tipo I, artritis reumatoide, rechazo a trasplantes o enfermedad del injerto contra el huésped (GVHD).

Otra modalidad de la invención es un método para tratar una infección viral crónica, que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo aislado que se une a, y neutraliza una actividad biológica del interferón omega (IFN- ω) humano y al menos a tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos del interferón alfa (IFN- α) humano a un paciente que necesita de éste por un tiempo suficiente para tratar la infección viral crónica.

El IFN-I es bien conocido por tener un rol de protección en la infección viral aguda. Recientemente, se demostró que el IFN-I desempeña un rol inmunosupresor en las infecciones virales crónicas a través de un mecanismo al menos parcialmente mediado por IL-10 y el ligando 1 de muerte celular programada (PDL1) (Teijaro y colaboradores, *Science* 340, 207 - 211, (2013); Wilson y *al.*, *Science* 340, 202 - 207, 2013). El bloqueo combinado de múltiples subtipos de IFN- α e IFN- ω puede ofrecer efectos benéficos en pacientes con infecciones virales crónicas incluyendo el VIH y la hepatitis C mediante la modulación negativa del ambiente inmunosupresor que conduce a la persistencia viral.

En algunas modalidades, la infección viral crónica es VIH o hepatitis C.

“Tratamiento” o “tratar” se refiere a tratamiento terapéutico. Los pacientes que se pueden tratar incluyen, además, aquellos propensos o susceptibles a tener el trastorno, o aquellos en los cuales el trastorno se puede prevenir. Los individuos que necesitan el tratamiento incluyen aquellos ya con el trastorno, o un síntoma del

trastorno. Los resultados clínicos deseados o benéficos incluyen el alivio de los síntomas, la disminución en la extensión de la enfermedad, el estado estabilizado (es decir, que no empeore) de la enfermedad, la demora o enlentecimiento del avance de la enfermedad, la mejora o paliación del estado de la enfermedad, y la remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o no. “Tratamiento” puede significar, además, prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento.

Los anticuerpos ilustrativos que se pueden usar en los métodos de la invención comprenden las regiones VH, VL, HCDR y/o LCDR como se muestra en las tablas 9, 13, 15, 17, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26 o 27, y los anticuerpos IFWM3308, IFWM3307, IFWM3410, IFWM3322, IFWM3385, IFWM3416, IFWM3310, IFWM3400, IFWM3321, IFWM3522, IFWM3524, IFWM3320, IFWM3304, IFWM3520, IFWM3399, IFWM3314, IFWM3331, IFWM3405, IFWM3442, IFWM3525, IFWM3423, IFWM3444 e IFWM3421.

Otros anticuerpos ilustrativos que se pueden usar en los métodos de la invención descrita en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación son los anticuerpos que se unen a y neutralizan una actividad biológica del interferón omega (IFN- ω) humano y al menos a tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos del interferón alfa (IFN- α) humano, en donde el anticuerpo se une al IFN- ω de la sec. con núm. de ident.: 1 al menos en los residuos F27, L30 y R33.

Otros anticuerpos ilustrativos que se pueden usar en los métodos de la invención descrita en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, son

anticuerpos que se unen al IFN- ω humano de sec. con núm. de ident.: 1 al menos en los residuos S25, P26, F27, L28, L30, K31, R33, R34 y D35.

Los métodos de la invención pueden usarse para tratar un paciente animal perteneciente a cualquier clasificación. Los ejemplos de esos animales incluyen
5 mamíferos tales como humanos, roedores, perros, gatos y animales de granja.

Los anticuerpos de la invención pueden ser útiles en la preparación de un medicamento para dicho tratamiento, en donde el medicamento se prepara para la administración en las dosis definidas en la presente descripción. La SLE es una enfermedad autoinmune multiorgánica crónica con factores tanto genéticos como
10 ambientales que contribuyen a su desarrollo.

La SLE se caracteriza por la producción de autoanticuerpos patogénicos y la deposición de complejos inmunes en los tejidos, que resultan en el daño al tejido a través de múltiples órganos. Las combinaciones de complicaciones cutáneas, musculoesqueléticas, hematológicas, neurológicas y renales se observan en pacientes,
15 con períodos de erupciones y remisiones. La nefritis lúpica se define como un caso de SLE con un diagnóstico de nefritis, proteinuria, hematuria y/o insuficiencia renal. En los pacientes con nefritis lúpica, el compromiso renal se caracteriza por proteinuria (>0,5 g/24 horas), y/o glóbulos rojos o cilindros en los especímenes de orina.

Sin desear estar limitados por ninguna teoría particular, se sugiere que los
20 activadores de la SLE, tales como los complejos inmunes de autoanticuerpos, invocan respuestas de IFN de tipo I asociadas con la sobreproducción de IFN- α e IFN- ω , pero no de IFN- β . Por lo tanto, los anticuerpos de IFN- α/ω de la invención pueden proporcionar un tratamiento más eficaz para el lupus y otras enfermedades

inflamatorias mediadas por el sistema inmune, inhibiendo ampliamente el IFN- ω y los múltiples subtipos del IFN- α mientras conserva la función de IFN- β , la cual puede desempeñar un rol más crítico en la defensa antiviral cuya molécula puede no tener relevancia biológica en el lupus. Por ejemplo, los anticuerpos anti-IFN- β fallaron en

5 neutralizar la actividad del suero de pacientes a partir de pacientes tanto con SLE como con AGS, una enfermedad asociada además con una actividad elevada del IFN de tipo I y típica de IFN (Hooks y colaboradores, *Arthritis and Rheumatism* 25:396-400, 1982; Hua y colaboradores, *Arthritis and Rheumatism* 54: 1906-85, 2006). Rice y colaboradores, *Lancet de Neurología* doi: 10.1016/s1474-4422 (13) (2013) 70258 - 8).

10 Otros tipos de lupus además de la SLE incluyen el lupus eritematoso cutáneo (CLE) y el lupus pediátrico.

Los síntomas asociados con el lupus incluyen el dolor y la rigidez de las articulaciones, artritis no erosivas, dolores musculares, dolores, debilidad, fiebre, malestar, úlceras en tejidos orales, manifestaciones cutáneas (por ejemplo, la irritación

15 en forma de mariposa a través de la nariz y las mejillas; erupciones dermatológicas producidas por la luz solar), reducción o aumento inusual del peso corporal, anemia, bajos conteos de linfocitos y/o plaquetas circulantes, manifestaciones neurológicas o neuropsiquiátricas (por ejemplo, problemas en el pensar, problemas de memoria, confusión, depresión, dolor de cabeza, convulsiones, isquemias), problemas de riñón

20 (por ejemplo, nefritis, por ejemplo, glomerulonefritis), sensibilidad al sol o a la luz, pérdida del cabello, dedos morados o pálidos por el estrés o frío, lesiones vasculares u otras manifestaciones vasculares, o síntomas cardiopulmonares tales como pericarditis o pleuritis. Los niveles elevados de interleucinas IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, IL-

17, IL-18, IL 5 e IL-16; TNF- α o los interferones de tipo I, así como la sobreexpresión de genes inducibles por el IFN están documentados en pacientes con lupus. Los pacientes pueden tener niveles elevados de los autoanticuerpos contra componentes nucleares y celulares tales como el ADN bicatenario (dsDNA), la ribonucleoproteína (RNP), SS-a/Ro, SS-b/La, fosfolípidos, histonas o cardiolipina. Los pacientes pueden tener deposición de complejos inmunes en al menos un tejido.

La SLE puede ser diagnosticada o clasificada por ejemplo, por el uso de las recomendaciones del Colegio Americano de Reumatología (ACR), o mediante el criterio clínico de colaboración internacional para el lupus sistémico (SLICC) para la clasificación del lupus eritematoso sistémico. Por ejemplo, los criterios SLICC del 2012 requieren que el paciente demuestre al menos 4 de 11 criterios, con al menos un criterio clínico y uno inmunológico, o la nefritis lúpica verificada con biopsia en presencia de anticuerpos anti-ADN (ADA) o anticuerpos anti-ácido nucleico (ANA). Los criterios clínicos son lupus cutáneo agudo, lupus cutáneo crónico, úlceras nasales u orales, alopecia no escamosa, artritis, serositis, síntomas renales, síntomas neurológicos, anemia hemolítica, leucopenia o trombocitopenia ($<100,000/\text{mm}^3$). Los criterios inmunológicos incluyen los ANA, ADA, anticuerpos anti-Sm, anticuerpos anti-fosfolípidos, bajo complemento (C3, C4 o CH50) o prueba de Coombs directa, la cual no cuenta en la presencia de anemia hemolítica (Petre y colaboradores, Arthritis and Rheumatism agosto 2012). La enfermedad activa puede definirse por el criterio “A” del grupo de actividad del lupus de las Islas Británicas (BILAG) o dos criterios BILAG “B”; el índice de actividad de la enfermedad SLE

(SLEDAI); o el índice de respuesta (SRI) del lupus eritematoso sistémico (SLE) descritos en Furie y colaboradores, *Arthritis Rheum.* 61(9): 1143-51 (2009).

La gravedad de la SLE y la actividad de la enfermedad se pueden definir mediante un índice de puntuación BILAG por un clínico con experiencia en la SLE. El

- 5 índice BILAG del 2004 se usa para determinar el índice de puntuación BILAG (ver Yee, y colaboradores *Arthritis & Rheumatism* 54:3300-3305, 2006; Isenberg y colaboradores, *Rheumatology* 44:902 - 906; 2005). El índice BILAG del 2004 evalúa 97 signos clínicos, síntomas, y parámetros de laboratorio a través de nueve dominios de sistemas de órganos: constitutivo, mucocutáneo, neuropsiquiátrico, musculoesquelético,
- 10 cardiorrespiratorio, gastrointestinal, oftálmico, renal, y hematológico. Los 97 síntomas se califican con respecto a la severidad sobre el mes previo (4 semanas) y con respecto a cualquier cambio desde el examen anterior (nuevo, mejor, estable, empeoramiento, ausente). Entonces se deriva una sola puntuación alfabética (de A a E) para cada uno de los nueve dominios a partir de los resultados del examen en cada categoría de
- 15 órganos. La **Tabla 2** muestra las categorías BILAG.

Tabla 2.

<u>Categoría</u>	Definición
A	Actividad severa de la enfermedad que requiere uno de los siguientes
	tratamientos:
	1. Altas dosis sistémicas de glucocorticoides por vía oral (equivalente a
	prednisona >20 mg/día);
	2. Pulso intravenoso de glucocorticoides (equivalente a pulso
	metilprednisona $\geq$ 500 mg);

	3. Inmunomoduladores sistémicos (incluyen productos biológicos, inmunoglobulinas y plasmaféresis);
	4. Altas dosis terapéuticas de anticoagulación en presencia de altas dosis de esteroides o inmunomoduladores, por ejemplo, warfarina con INR 3-4 objetivo.
B	Actividad moderada de la enfermedad que requiere cualquiera de los siguientes tratamientos:
	1. Bajas dosis sistémicas de glucocorticoides por vía oral (equivalente a prednisolona ≤ 20 mg/día);
	2. Tejido intramuscular o intraarticular o blando inyección de glucocorticoides (equivalente a metilprednisolona <500 mg).
C	Enfermedad leve estable.
D	Enfermedad inactiva pero previamente afectada.
E	Sistema nunca implicado.

La CLE se clasifica, además, como aguda (ACLE), subaguda (SCLE), crónica (CCLE) o intermitente (ICLE), dependiendo de la constelación de aspectos clínicos de la CLE y la duración de las lesiones cutáneas, las anomalías del laboratorio y los cambios histológicos en las biopsias de piel. La clasificación y las manifestaciones clínicas de las diversas formas de la CLE se reseñan en Kuhn y Landmann, J Autoimmunity 48-49:14-19, 2014.

Una firma génica de IFN de tipo I se ha reportado como una correlación positiva con las presentaciones tanto clínicas como serológicas del lupus (Karageorgas y colaboradores, J Biomed Biotechnol 273907, 2011 Baechler y colaboradores, Proc Natl Acad Sci USA 100:2610 - 2615, 2003, Bennett y colaboradores, J Exp Med 197:711 - 723, 2003, Dall'era y colaboradores Ann Rheum Dis 64: 1692-1697, 2005, Niewold y colaboradores Genes Immun 8: 492-502, 2007). Una preponderancia de los

autoanticuerpos en conjunción con su reducida depuración conduce a un ciclo de retroalimentación de la producción de IFN donde la internalización dependiente del receptor Fc de los complejos inmunes hacia las células dendríticas plasmacitoides (pDC) conduce a cantidades incrementadas de IFN y así al establecimiento de una firma de IFN. En los ensayos clínicos, los anticuerpos anti-IFN- α en los pacientes con SLE han demostrado una reducción parcial de la firma de IFN de tipo I en la mayoría de los pacientes que exhiben la firma de IFN y una ligera eficacia en los análisis exploratorios (Petri y colaboradores, *Arthritis and Rheumatism* **65**, 1011 (abril 2013); Merrill J y colaboradores, *Annals of the rheumatic diseases* **70**, 314 (2011); Kennedy y colaboradores, *The 10th International Congress on SLE, Buenos Aires, Argentina* la presentación oral 5, 022, (20 de abril de 2013)).

El estándar de cuidado en el manejo del lupus se basa en los patrones actuales de práctica médica aceptados, los documentos de guía aprobados desarrollados por las sociedades de reumatología (por ejemplo, el Colegio Americano de Reumatología, la Liga Europea contra el Reumatismo) y la discreción de los médicos tratantes. Los pacientes con lupus continúan teniendo una actividad de la enfermedad mucho después que el diagnóstico se hace, incluso con un manejo apropiado, involucrando usualmente nuevos sistemas de órganos o daños a sistemas de órganos específicos. Existen tres patrones en la actividad de la enfermedad de lupus: la erupción (o la actividad de la enfermedad remitente o recurrente), la enfermedad activa crónicamente, y la larga quiescencia. Estos patrones de la enfermedad se caracterizan por el uso de evaluaciones clínicas sistemáticas, pruebas de laboratorio de rutina, mediciones estandarizadas de la actividad de la enfermedad, y la integración de estas

evaluaciones con la propia percepción del paciente de su estado de salud y calidad de vida. Cuando los signos y síntomas del paciente de las erupciones persisten o empeoran, el médico puede considerar que se justifica un cambio en los medicamentos y/o las dosis. Los medicamentos que se usan para controlar el lupus incluyen, pero no se limitan a los siguientes: (1) los AINE, que incluyen los AINE que no necesitan receta médica, por ejemplo, el naproxeno (Aleve) e ibuprofeno (Advil, Motrin, colaboradores), y LOS AINE más fuertes disponibles con prescripción; (2) medicamentos antipalúdicos, por ejemplo, hidroxicloroquina (Plaquenil); (3) corticosteroides, por ejemplo, prednisona y otros tipos de corticosteroides, y (4) supresores inmunes, por ejemplo, ciclofosfamida (Cytoxan), azatioprina (Imuran, Azasan), micofenolato (Cellcept), leflunomida (Arava) y metotrexato (Trexall).

Los anticuerpos de la invención se pueden probar para su eficacia *in vitro* en células relevantes para la enfermedad por el uso de preparaciones de IFN relevantes para la enfermedad. Tales pruebas *in vitro* pueden ser, por ejemplo, la evaluación de la inhibición de la producción de IFN inducida por los complejos inmunes en los pacientes con SLE en la sangre total, o la evaluación de la capacidad de los anticuerpos para reducir la firma de IFN en la sangre total como se describe en la presente. Se pueden usar además modelos animales de lupus, tales como los ratones NZB/NZW F1 que exhiben una enfermedad dependiente del tiempo y sesgada para el sexo femenino con varias características del lupus humano que incluyen la glomerulonefritis. Sin embargo, como los ratones no producen IFN- ω su uso como un modelo para determinar la eficacia de los anticuerpos de la invención es más limitado.

En algunas modalidades, el paciente exhibe una firma de interferón de tipo I. “Firma de interferón de tipo I” o “firma de interferón” como se usa en la presente descripción, se refiere a la regulación positiva de un subconjunto de genes que son inducidos por el IFN-I. Se conocen varias firmas de IFN de tipo I, que varían de 3-27 genes. Estas firmas pueden usarse, por ejemplo, como marcadores farmacodinámicos para evaluar el acoplamiento objetivo de los inhibidores del IFN de tipo I para el tratamiento de la SLE y para el propósito de la estratificación del paciente con SLE.

Una firma de interferón de tipo I ilustrativa se muestra en la Tabla 3, que consiste en 21 genes regulados positivamente como se describe en Yao y colaboradores, *Arthritis and Rheumatism* **60**, 1785 (junio, 2009). Otras firmas de interferón de tipo I ilustrativas se describen en Tcherepanova, I., y colaboradores, *Annals of the rheumatic diseases* 71(Suppl3) (2012) y Richardson, B. y colaboradores Development of A Quantitative PCR Method to Determine Interferón Signature Metric Status in SLE Patients: Distribution and Clinical & Serological Associations in Two Lupus Clinical Trials. *ACR/ARHP 2012 Annual Meeting Abstract* 620 (2012).

En algunos métodos, el anticuerpo anti-IFN- α/ω es un anticuerpo biespecífico.

En algunos métodos, el anticuerpo biespecífico anti-IFN- α/ω neutraliza BLyS, CD40L, IL-6, CD27, BDCA2, IL-12, IL-23, IFN- α D, IL-17 o CD20.

Tabla 3.

Número	Símbolo del gen	Nombre del gen
1	IFI27	interferón, proteína alfa-inducible 27
2	IFI6	interferón, proteína alfa-inducible 6
3	RSAD2	dominio metionina S-adenosil radical que contiene 2

4	IFI44	proteína 44 inducida por interferón
5	IFI44L	proteína IFI44L similar a la 44 inducida por interferón
6	USP18	peptidasa 18 específica para ubiquitina
7	LY6E	complejo 6 de antígeno de linfocito, locus E
8	OAS1	2', 5'-oligoadenilato sintetasa 1, 40/46 kDa
9	SIGLEC1	lectina 1 SIGLEC1 tipo Ig que se une ácido al siálico
10	ISG15	modificador ISG15 de tipo ubiquitina
11	IFIT1	proteína inducida por interferón con repeticiones de tetratricopéptidos
12	OAS3	OAS3 2'-5'-oligoadenilato sintetasa 3, 100 kDa
13	HERC5	dominio hect y RLD 5
14	MX1	resistencia 1 a mixovirus (virus de la influenza)
15	LAMP3	proteína 3 de membrana asociada a lisosómico
16	EPSTI1	interacción 1 estromal epitelial (mama)
17	IFIT3	proteína inducida por interferón con repeticiones de tetratricopéptidos
18	OAS2	2'-5'-oligoadenilato sintetasa 2, 69/71 kDa
19	RTP4	proteína 4 transportadora de receptor (quimiosensora)
20	PLSCR1	Escramblasa de fosfolípido 1
21	DNATP6	Proteína 6 transactivada por ADN polimerasa

Composiciones farmacéuticas/Administración

La invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden el anticuerpo anti-IFN- α/ω de la invención que se describe en la presente descripción, y en algunas modalidades de todas y cada una de las modalidades enumeradas incluidas a continuación, y un portador farmacéuticamente aceptable. Para el uso terapéutico, el anticuerpo anti-IFN- α/ω de la invención se puede preparar como composiciones farmacéuticas que contienen una cantidad efectiva del anticuerpo anti-IFN- α/ω como un ingrediente activo en un portador farmacéuticamente aceptable. El término “portador” se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el compuesto activo. Los vehículos pueden ser

líquidos, tales como agua y aceites, que incluyen los de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, tal como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, y lo similar. Por ejemplo, se puede usar 0,4 % de solución salina y 0,3 % de glicina. Estas soluciones son estériles y, generalmente, libres de materia
5 particulada. Se pueden esterilizar mediante técnicas de esterilización convencionales y muy conocidas (*por ejemplo*, filtración). Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables según se requiere para aproximarse a condiciones fisiológicas tales como ajuste de pH y agentes tamponadores, estabilizantes, espesantes, lubricantes y agentes colorantes, etc. La
10 concentración de las moléculas o los anticuerpos de la invención en dicha formulación farmacéutica podría variar ampliamente, es decir, de menos de aproximadamente 0,5 %, usualmente a al menos aproximadamente 1 % a tanto como 15, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, o 50 % en peso, y se seleccionará principalmente sobre la base de la dosis requerida, los volúmenes de fluido, las
15 viscosidades, etc., de conformidad con el modo de administración particular seleccionado. Las formulaciones y vehículos adecuados, incluidas otras proteínas humanas, por ejemplo, albúmina de suero humano, se describen, por ejemplo, en por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21 edición, Troy, D.B. ed., Lipincott Williams y Wilkins, Filadelfia, PA 2006, Parte 5, Pharmaceutical
20 Manufacturing, págs. 691-1092, ver especialmente las págs. 958-989.

El modo de administración del anticuerpo anti-IFN- α/ω en los métodos de la invención que se describen en la presente descripción, y en algunas modalidades de cada una de las modalidades enumeradas que se incluyen a continuación,

puede ser cualquier ruta adecuada tal como la administración parenteral, p. ej., intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa o subcutánea, pulmonar, transmucosal (oral, intranasal, intravaginal, rectal) u otros medios que se aprecien por los expertos en la técnica, como se conoce bien en la técnica.

5 El anticuerpo anti-IFN- α/ω en los métodos de la invención que se describen en la presente descripción, y en algunas modalidades de cada una de las modalidades enumeradas que se incluyen a continuación, puede administrarse a un paciente por cualquier ruta adecuada, por ejemplo, parenteralmente por infusión intravenosa (*i.v.*) o por inyección de bolo, intramuscularmente o subcutáneamente o
10 intraperitonealmente. La infusión *i.v.* puede administrarse durante, por, ejemplo, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240 minutos, o de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 horas.

La dosis que se da a un paciente que sufre de una enfermedad inflamatoria mediada por el sistema inmune o una enfermedad autoinmune tal como lupus es suficiente para aliviar o al menos parcialmente detener la enfermedad que se trata
15 (“cantidad terapéuticamente eficaz”) y pueden ser a veces de 0,005 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, p. ej., de aproximadamente 0,05 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg o de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg, o de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg/kg, o de aproximadamente 4 mg/kg, aproximadamente 8 mg/kg, aproximadamente
20 16 mg/kg, o aproximadamente 24 mg/kg, o, p. ej., aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg/kg, pero puede incluso ser superior, por ejemplo, aproximadamente 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 mg/kg.

Puede suministrarse, además, una dosis unitaria fija, por ejemplo, 50, 100, 200, 500 o 1000 mg, o la dosis puede basarse en el área de superficie del paciente, por ejemplo, 500, 400, 300, 250, 200 o 100 mg/m². Usualmente entre 1 y 8 dosis (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8) pueden administrarse para tratar la enfermedad

5 inflamatoria mediada por el sistema inmune, tal como lupus, pero pueden suministrarse 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más dosis.

La administración del anticuerpo anti-IFN- α/ω en los métodos de la invención y en algunas modalidades de cada una de las modalidades enumeradas que se incluyen a continuación, podría repetirse después de un día, dos días, tres días,

10 cuatro días, cinco días, seis días, una semana, dos semanas, tres semanas, un mes, cinco semanas, seis semanas, siete semanas, dos meses, tres meses, cuatro meses, cinco meses, seis meses o más. Son posibles, además, cursos de tratamiento repetidos, como lo es la administración crónica. La administración repetida puede ser con la misma dosis o con dosis diferentes. Por ejemplo, el

15 anticuerpo anti-IFN- α/ω en los métodos de la invención puede administrarse a 0,1 mg/kg, a 1 mg/kg, a 5 mg/kg, a 8 mg/kg o a 16 mg/kg en un intervalo semanal durante 8 semanas, seguido de la administración a 8 mg/kg o a 16 mg/kg cada dos semanas por un período adicional de 16 semanas, seguido de la administración a 8 mg/kg o a 16 mg/kg cada cuatro semanas por infusión intravenosa.

20 El anticuerpo anti-IFN- α/ω pueden administrarse en los métodos de la invención y en algunas modalidades de cada una de las modalidades enumeradas que se incluyen a continuación, mediante el mantenimiento de la terapia, tal como, p. ej., una vez por semana durante un período de 6 meses o más.

Por ejemplo, el anticuerpo anti-IFN- α/ω en los métodos de la invención y en algunas modalidades de cada una de las modalidades enumeradas que se incluyen a continuación, puede proporcionarse como una dosis diaria en una cantidad de aproximadamente 0,1-100 mg/kg, tal como 0,5, 0,9, 1,0, 1,1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 mg/kg, por día, en al menos uno de los días 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, o 40, o alternativamente, al menos una de las semanas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 después del inicio de un tratamiento, o cualquier combinación de estas, mediante el uso de una dosis única o en dosis divididas de cada 24, 12, 8, 6, 4, o 2 horas, o cualquier combinación de estas.

El anticuerpo anti-IFN- α/ω en los métodos de la invención y en algunas modalidades de cada una de las modalidades enumeradas que se incluyen a continuación, puede administrarse, además, profilácticamente con el fin de reducir el riesgo de desarrollar la enfermedad inflamatoria mediada por el sistema inmune o una enfermedad autoinmune tal como lupus, retrasar la aparición de la enfermedad inflamatoria mediada por el sistema inmune o la enfermedad autoinmune, y/o reducir el riesgo de recurrencia cuando la enfermedad inflamatoria mediada por el sistema inmune o la enfermedad autoinmune tal como lupus está en remisión.

Así, puede prepararse una composición farmacéutica de la invención para inyección intramuscular que contenga 1 ml de agua estéril amortiguada, y de entre aproximadamente 1 ng a aproximadamente 100 mg/kg, p. ej., de aproximadamente

50 ng a aproximadamente 30 mg/kg o con mayor preferencia, de aproximadamente 5 mg a 25 mg/kg, del anticuerpo anti-IFN- α/ω de la invención.

Por ejemplo, una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-IFN- α/ω en los métodos de la invención que se describe en la presente descripción, y en algunas modalidades de cada una de las modalidades enumeradas que se incluyen a continuación, para infusión intravenosa puede conformarse para contener aproximadamente 200 ml de solución de Ringer estéril, y aproximadamente de 8 mg a aproximadamente 2400 mg, de aproximadamente 400 mg a aproximadamente 1600 mg, o de aproximadamente 400 mg a aproximadamente 800 mg del anticuerpo anti-IFN- α/ω para su administración a un paciente de 80 kg. Los métodos para preparar composiciones administrables parenteralmente se conocen y se describen con más detalle en, por ejemplo, “Remington's Pharmaceutical Science”, 15. ed., Mack Publishing Company, Easton, PA.

La “cantidad terapéuticamente eficaz” de los anticuerpos de IFN- α/ω de la invención eficaz en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria mediada por el sistema inmune o una enfermedad autoinmune puede determinarse por técnicas de investigación estándares. Por ejemplo, pueden emplearse ensayos *in vitro* para ayudar a identificar los intervalos óptimos de dosificación. Opcionalmente, la dosificación de los anticuerpos anti-IFN- α/ω de la invención que puede ser eficaz en el tratamiento de las enfermedades inflamatorias mediadas por el sistema inmune o enfermedades autoinmunes tales como el lupus, lo que incluye al SLE puede determinarse al administrar los anticuerpos anti-IFN- α/ω en modelos animales pertinentes que se conocen bien en la técnica. La selección de una dosis efectiva particular puede

determinarse (*p. ej.*, a través de ensayos clínicos) por aquellos con experiencia en la técnica en base a la consideración de muchos factores. Tales factores incluyen la enfermedad a tratar o prevenir, los síntomas involucrados, la masa corporal del paciente, el estado inmune del paciente y otros factores que se conocen por el experto en la técnica. La dosis precisa a emplear en la formulación dependerá, además, de la ruta de administración, y de la severidad de la enfermedad, y deberá decidirse de conformidad con el criterio del médico y las circunstancias de cada paciente. Las dosis efectivas pueden extrapolarse a partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de sistemas de prueba en modelos animales o *in vitro*. Los anticuerpos de la invención pueden probarse para su eficacia y dosificación eficaz por medio del uso de cualquiera de los modelos descritos en la presente descripción.

El anticuerpo anti-IFN- α/ω en los métodos de la invención que se describe en la presente descripción, y en algunas modalidades de cada una de las modalidades enumeradas que se incluyen a continuación, pueden liofilizarse para almacenarse y reconstituirse en un portador adecuado antes de usarse. Esta técnica ha demostrado ser eficaz con preparaciones de proteínas convencionales y pueden usarse técnicas de liofilización y reconstitución conocidas.

El anticuerpo anti-IFN- α/ω en los métodos de la invención que se describe en la presente descripción, y en algunas modalidades de cada una de las modalidades enumeradas que se incluyen a continuación, puede administrarse en combinación con un segundo agente terapéutico simultáneamente, secuencialmente o separadamente.

El segundo agente terapéutico puede ser un corticosteroide, un fármaco antipalúdico, un inmunosupresor, un fármaco citotóxico, o un modulador de células B.

En algunas modalidades, el segundo agente terapéutico es prednisona, prednisolona, metilprednisolona, deflazcort, hidroxiclороquina, azatioprina, metotrexato, ciclofosfamida, mofetilo de micofenolato (MMF), mofetilo de sodio, ciclosporina, leflunomida, tacrolimo, rituximab™, o belimumab™.

5

Modalidades adicionales de la invención

A continuación se describen ciertas modalidades adicionales de la invención de conformidad con las descripciones que aparecen en otra parte de la presente descripción. Las características de las modalidades de la invención que se describen
10 antes descritas en relación con la invención descrita en la presente descripción se refieren, además, a todas y cada una de estas modalidades enumeradas adicionales.

- 1) Un anticuerpo monoclonal aislado que se une a, y neutraliza una actividad biológica de un interferón omega humano (IFN- ω) y al menos tres, cuatro, cinco,
15 seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos de interferón alfa humanos (IFN- α).
- 2) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 1, en donde la actividad biológica del IFN- ω humano y de los subtipos de IFN- α humanos es la expresión inducida por el subtipo de IFN- ω humano o el IFN- α humano de la fosfatasa alcalina embrionaria secretada (SEAP) bajo el promotor ISG54 inducible por interferón en
20 células HEK293 que expresan establemente el transductor de la señal y activador de la transcripción 2 (STAT2), el factor regulador de interferón 9 (IRF9) y SEAP.
- 3) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 1 o 2, en donde el anticuerpo neutraliza la actividad biológica del IFN- ω humano con una IC₅₀ de al menos

aproximadamente 1×10^{-9} M o menos, aproximadamente 1×10^{-10} M o menos, aproximadamente 5×10^{-11} M o menos, o aproximadamente 1×10^{-11} M o menos.

4) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-3, en donde el anticuerpo neutraliza la actividad biológica del IFN- ω con un valor de IC_{50} de al menos aproximadamente 1×10^{-10} M o menos.

5) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-4, en donde el anticuerpo neutraliza la actividad del IFN- ω humano con un valor de IC_{50} de entre aproximadamente 1×10^{-10} M a aproximadamente 6×10^{-12} M.

6) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-5, en donde el anticuerpo neutraliza la actividad de al menos tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once subtipos de IFN- α humanos con un valor de IC_{50} de al menos aproximadamente 1×10^{-10} M o menos.

7) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 6, en donde los subtipos de IFN- α se seleccionan del grupo que consiste en IFN- α A, IFN- α B2, IFN- α C, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α I, IFN- α J1, IFN- α K, IFN- α WA e IFN- α 4a.

8) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 7, en donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos de la región determinante de la complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) y 3 (HCDR3) de las secs. con núms. de ident.: 109, 114 y 121, respectivamente, y las secuencias de aminoácidos de la región determinante de la complementariedad de cadena liviana (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) y 3 (LCDR3) de las secs. con núms. de ident.: 118, 119 y 120.

- 9) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-5, en donde el anticuerpo neutraliza al menos seis subtipos del IFN- α humano que se seleccionan del grupo que consiste en IFN- α A, IFN- α B2, IFN- α C, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α I, IFN- α J1, IFN- α K, IFN- α WA e IFN- α 4a.
- 5 10) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 9, en donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos HCDR1, la HCDR2, la HCDR3, la LCDR1, la LCDR2 y la LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 114, 121, 159, 119 y 160, respectivamente.
- 11) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-5, en donde
10 el anticuerpo neutraliza al menos diez subtipos de IFN- α humanos que se seleccionan del grupo que consiste en IFN- α A, IFN- α B2, IFN- α C, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α I, IFN- α J1, IFN- α K, IFN- α WA e IFN- α 4a.
- 12) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 11, en donde el anticuerpo une
15 al IFN- ω de la sec. con núm. de ident.: 1 al menos en los residuos de aminoácidos F27, L30 y R33.
- 13) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-5, en donde el anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos HCDR1, la HCDR2, la HCDR3, la LCDR1, la LCDR2 y la LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 109, 114, 121, 161, 119 y 162, respectivamente.
- 20 14) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 11-13, en donde el anticuerpo neutraliza al menos los subtipos del IFN- α humano IFN- α A, IFN- α B2, IFN- α C, IFN- α F, IFN- α G, IFN- α H2, IFN- α J1 e IFN- α 4a.

15) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 14, en donde el anticuerpo neutraliza, además, IFN- α I, IFN- α K o IFN- α WA.

16) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-15, en donde el anticuerpo

5 a) inhibe de la liberación de IP-10 inducida por interferón de leucocitos en sangre total inducida por 250 U/ml de interferón en aproximadamente 50 % o más en presencia de 10 μ g/ml de anticuerpo; o

b) inhibe la liberación de IP-10 inducida por el complejo inmune del lupus eritomatoso sistémico en sangre total en aproximadamente 50 % o más en
10 presencia de 10 μ /ml del anticuerpo.

17) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-16, en donde el anticuerpo comprende una secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (VH) al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 28 y una
15 secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera (VL) al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 150.

18) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-17, que comprende

20 a) las secuencias de aminoácidos HCDR1 de las secs. con núms. de ident.: 109;
b) la secuencia de aminoácidos de HCDR2 de las secs. con núms. de ident.: 111, 112 o 113;

- c) las secuencias de aminoácidos de HCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 115 o 116;
- d) las secuencias de aminoácidos de LCDR1 de las secs. con núms. de ident.: 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90 o 91;
- 5 e) las secuencias de aminoácidos de LCDR2 de las secs. con núms. de ident.: 93, 94 o 95; y
- f) las secuencias de aminoácidos de LCDR3 de las secs. con núms. de ident.: 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106 o 107.

19) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 18, que comprende las
10 secuencias HCDR1, la HCDR2, la HCDR3, la LCDR1, la LCDR2 y la LCDR3 de las secs. con núms. de ident.:

- a) 109, 113, 116, 77, 93 y 104, respectivamente;
- b) 109, 113, 116, 85, 93 y 96, respectivamente;
- c) 109, 113, 115, 79, 95 y 107, respectivamente;
- 15 d) 109, 113, 116, 76, 93 y 103, respectivamente;
- e) 109, 113, 115, 85, 93 y 96, respectivamente;
- f) 109, 113, 115, 89, 95 y 100, respectivamente;
- g) 109, 113, 116, 86, 93 y 105, respectivamente;
- h) 109, 113, 115, 76, 93 y 103, respectivamente;
- 20 i) 109, 113, 116, 80, 93 y 97, respectivamente;
- j) 109, 113, 116, 84, 93 y 97, respectivamente;
- k) 109, 113, 116, 90, 93 y 97, respectivamente;
- l) 109, 113, 116, 88, 93 y 102, respectivamente;

m) 109, 113, 116, 87, 93 y 105, respectivamente;

n) 109, 113, 116, 91, 93 y 106, respectivamente;

o) 109, 113, 115, 80, 93 y 97, respectivamente;

p) 109, 113, 116, 83, 93 y 101, respectivamente;

5 q) 109, 113, 116, 82, 94 y 98, respectivamente;

r) 109, 113, 115, 78, 95 y 100, respectivamente;

s) 109, 111, 116, 81, 93 y 106, respectivamente;

t) 109, 113, 116, 82, 94 y 99, respectivamente;

u) 109, 113, 115, 81, 93 y 106, respectivamente;

10 v) 109, 112, 116, 81, 93 y 106, respectivamente; o

w) 109, 113, 116, 81, 93 y 106, respectivamente.

20) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-19, en donde el anticuerpo es humanizado o humano.

15 21) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 20, en donde la región marco de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo se deriva del gen de la línea germinal humana IGHV5-51 (sec. con núm. de ident.: 155).

22) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 21, en donde la región marco de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo se deriva del gen de la línea germinal humana IGKV1D-39 (sec. con núm. de ident.: 156).

20 23) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-22, en donde el anticuerpo es del subtipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.

24) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 23, en donde el anticuerpo tiene al menos una sustitución en una región Fc.

25) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 24, en donde la sustitución comprende una sustitución M252Y/S254T/T256E, V234A/G237A/P238S/H28A/V309L/A330S/P331S o P238S/L234A/L235A, en donde la numeración de los residuos se realiza de conformidad con la numeración de EU.

26) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-26, que comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la

a) la VH comprende la secuencia de aminoácidos de las secs. con núms. de ident.: 28, 31, 157 o 158.

27) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 26, en donde la VL comprende la secuencia de aminoácidos de las secs. con núms. de ident.: 35, 39, 40, 42, 46, 52, 53, 54, 57, 61, 62, 68, 71, 73, 75, 135 o 150.

28) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 27 que comprende la VH y VL de las secs. con núms. de ident.:

a) 28 y 40, respectivamente;

b) 28 y 39, respectivamente;

c) 31 y 62, respectivamente;

d) 28 y 54, respectivamente;

e) 31 y 39, respectivamente;

f) 31 y 68, respectivamente;

g) 28 y 42, respectivamente;

h) 31 y 54, respectivamente;

- i) 28 y 53, respectivamente;
- j) 28 y 73, respectivamente;
- k) 28 y 75, respectivamente;
- l) 28 y 52, respectivamente;
- 5 m) 28 y 35, respectivamente;
- n) 28 y 135, respectivamente;
- o) 31 y 53, respectivamente;
- p) 28 y 46, respectivamente;
- q) 28 y 61, respectivamente;
- 10 r) 31 y 57, respectivamente;
- s) 157 y 71, respectivamente;
- t) 28 y 150, respectivamente;
- u) 31 y 71, respectivamente.
- v) 158 y 71, respectivamente; o
- 15 w) 28 y 71, respectivamente.

29) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-28, en donde el anticuerpo es biespecífico.

30) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 29, en donde el anticuerpo se une a BLYS, CD40L, IL-6, CD27, BDCA2, IL-12, IL-23, IFN- α D, IL-17, CD20, IL-
20 10, CD22, IL-21, ICOS, ICOSL o IFN- γ .

31) Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-30 y un portador farmacéuticamente aceptable.

32) Un polinucleótido que codifica la VH o VL del anticuerpo o la VH y VL del anticuerpo de cualquiera de las modalidades 1-28.

33) Un vector que comprende el polinucleótido de conformidad con la reivindicación 32.

34) Una célula huésped que comprende el vector de conformidad con la reivindicación 33.

35) Un método para producir el anticuerpo de la modalidad 19, que comprende cultivar la célula huésped de la modalidad 33 en condiciones tales que el anticuerpo se exprese, y recuperar el anticuerpo que se produce por la célula huésped.

36) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-30, para usarlo en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria mediada por el sistema inmune o una enfermedad autoinmune.

37) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 36 para el uso en

a) la enfermedad inflamatoria mediada por el sistema inmune o la enfermedad autoinmune, en donde la enfermedad inflamatoria mediada por el sistema inmune o la enfermedad autoinmune es opcionalmente lupus, psoriasis, trombocitopenia inmune (ITP), síndrome de Aicardi-Goutieres (AGS), esclerosis sistémica, Síndrome de Sjögren, miositis, inmunodeficiencia variable común (CVID), enfermedad de la tiroides autoinmune, diabetes tipo I, artritis reumatoide, rechazo al trasplante o enfermedad de injerto contra huésped (GVHD);

b) una infección viral crónica, en donde la infección viral crónica es opcionalmente infección por VIH o hepatitis C.

- 38) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-30, para usarlo en el tratamiento del lupus.
- 39) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 38 para usar en el lupus, en donde el lupus es lupus eritematoso sistémico (SLE) o lupus eritematoso cutáneo (CLE).
- 5 40) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-30, para usarlo en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria mediada por el sistema inmune o el lupus, en donde el paciente que se va a tratar tiene
- a) nefritis lúpica; o
 - b) exhibe una firma de interferón de tipo I.
- 10 41) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-30, para usarlo de conformidad con las modalidades 37-40 en combinación con un segundo agente terapéutico.
- 42) El anticuerpo de conformidad con la modalidad 41, en donde el segundo agente terapéutico es
- 15 a) un anticuerpo que une a BLYS, CD40L, IL-6, CD27, BDCA2, IL-12, IL-23, IFN- α D, IL-17, CD20, IL-10, CD22, IL-21, ICOS, ICOSL o IFN- γ ;
- b) un corticosteroide, un fármaco antipalúdico, un inmunosupresor, un fármaco citotóxico, o un modulador de células B; o
- c) prednisona, prednisolona, metilprednisolona, deflazcort, hidroxicloroquina,
- 20 azatioprina, metotrexato, ciclofosfamida, mofetilo de micofenolato (MMF), mofetilo de sodio, ciclosporina, leflunomida, tacrolimo, rituximab™ o belimumab™.

43) El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-30, en donde el anticuerpo no neutraliza a IFN- α D, IFN- α 1 y/o IFN- β .

La presente invención se describirá ahora con referencia a los siguientes,

5 ejemplos no limitantes.

Materiales y métodos

Ensayo del gen reportero ISRE (“ensayo del gen reportero ISRE”)

10 Se usaron células HEK-Blue™ IFN- β / α (InvivoGen San Diego, CA) diseñadas por ingeniería genética para expresar una ruta de señalización del IFN tipo I completamente activa (que expresa establemente STAT2 e IRF9) y transfectadas con un gen reportero SEAP bajo el control del promotor ISG64 inducible por IFN- α / β . Las células se cultivaron en matraces T150 recubiertos con colágeno tipo I en medio
15 Eagle modificado de Dulbecco con 10 % de suero fetal bovino, 100 ug/ml de blasticidina y 30 ug/ml de zeocina a 37 °C, 5 % de CO₂. Las células se cosecharon y se colocaron en placas de 384 pocillos a 50 μ l por pocillo a 50.000 células por ml. Las células colocadas en placas se incubaron a 37 °C, 5 % de CO₂ durante 24 h. Se prepararon muestras de interferón comprobadas y se diluyeron en un medio libre de
20 suero HEK ISRE agotado, y se agregaron 50 μ l de la muestra de IFN a cada pocillo. Las células colocadas en placas se incubaron a 37 °C, 5 % de CO₂ durante 20 h. Se detectó la fosfatasa alcalina a partir de 20 μ l de los sobrenadantes de las células colocadas en placas con 60 μ l/pocillo de QUANTI-Blue™ resuspendido en agua

filtrada después de una incubación de 20 min a temperatura ambiente. Se leyó la densidad óptica en un lector de placas Biotek Synergy a 650 nm.

Algunos ensayos del gen reportero ISRE se realizaron en placas de 96 pocillos de la siguiente manera: Se colocaron en placas células HEK-Blue™ IFN-β/α (InvivoGen, San Diego, CA) a 50,000 células por pocillo en 100 µl de medio libre de selección (DMEM + Glutamax/10 % de FBS, Gibco) y se dejaron incubar durante la noche a 37 °C. Al día siguiente, se prepararon estímulos de IFN de tipo I (es decir, interferón recombinante, IFN de leucocitos, preparaciones de IFN inducidas por IC, suero, etc.) con o sin inhibidores de IFN de tipo I en una placa de transferencia de fondo en U de 96 pocillos (BD Falcon) y se precalentó a 37 °C durante 10 minutos. Se retiró una placa de células de la incubadora y el medio se eliminó y se reemplazó con 100 µl de tratamientos apropiados preparados en placas de transferencia de fondo en U de 96 pocillos. Las células se colocaron de nuevo a 37 °C durante 24 horas. Al día siguiente, se transfirieron 40 µl de sobrenadante a una placa de fondo plano de 96 pocillos (BD Falcon) que contenía 160 µl del sustrato QUANTI-Blue™ SEAP (Invivogen). Se dejó desarrollar la placa durante aproximadamente 15 minutos, momento en el cual se leyó mediante el uso de un espectrómetro en una absorbancia de 650 nm.

Ejemplo 1. El IFN-ω soluble está presente y activo en la sangre de los pacientes con SLE

Se analizó el plasma de dos cohortes con SLE independientes de Nanjing, China y el suero que se recolectó de una cohorte Caucásica en los Estados Unidos para determinar IFN-ω e IFN-α solubles mediante el uso de un ELISA multiplexado

mediante el uso de un estuche de ELISA multiplexado para interferón humano VeriPlex ((PBL Assay Science, núm de catálogo 51500-1) de conformidad con las instrucciones del fabricante. El ELISA multiplexado detecta muchos, pero no la totalidad de los subtipos de IFN- α y pueden no reflejar con exactitud las diferencias

5 cuantitativas entre los niveles de IFN- ω totales contra el IFN- α .

Se encontró que el IFN- ω , además del IFN- α , se eleva en determinados pacientes de la cohorte de Nanjing, China (**Figura 1A**) y en la cohorte caucásica (**Figura 1B**) de cada cohorte. La Figura 1A muestra los resultados de solo aquellos pacientes que se encontró tenían un IFN- ω o IFN- α elevados. Las muestras de suero

10 del grupo caucásico se analizaron, además, para detectar la actividad de IFN-I mediante el uso de un ensayo del gen reportero ISRE. Los donantes que tenían la mayor cantidad de proteína IFN detectable por ELISA demostraron, además, un mayor nivel de inducción de ISRE en el ensayo del gen reportero (**Figura 1C**).

15 **Ejemplo 2. El bloqueo combinado del IFN- ω e IFN- α resulta en una mayor inhibición del IFN inducido por el complejo inmune del SLE en relación al bloqueo de IFN- α solamente.**

Se evaluó el efecto de inhibición del IFN- α solamente o del IFN- ω y el IFN- α para reducir el IFN inducido por el complejo inmune del SLE, un estímulo que

20 representa mejor el medio con IFN de tipo I presente en el SLE. Se preparó el IFN inducido por el complejo inmune del SLE mediante la estimulación de PBMC humanas con complejos inmunes preparados a partir de dos donantes con SLE individuales y

este medio acondicionado se usó en un ensayo de gen reportero inducible por IFN tipo I (ensayo del gen reportero ISRE) en presencia de inhibidores de IFN y controles.

Preparación del complejo inmune

5 El plasma de los donantes con SLE 232 y 293 (preseleccionados para detectar la actividad de IFN) y el plasma de un control sano (Astarte Biologics) se usaron en la purificación de IgG mediante el uso de columnas de proteína A/G (Thermo Scientific, Cat núm. 89958) de conformidad con las instrucciones del fabricante. Se usó el suero de una prepración combinada de donantes sanos (Life Technologies, Cat núm. 34005100)

10 en la purificación de IgG del control sano. Para crear los lisados para la formación del complejo inmune, se concentraron células HEK293T (ATCC, Cat núm. CRL-3216) hasta 5×10^7 células/ml en DPBS 1x (Life Technologies, Cat núm. 14190-250). Para crear los lisados, se realizaron 4 ciclos de 10 minutos de congelación-descongelación, con la congelación a -80°C y la descongelación a 37°C , excepto en una congelación inicial de

15 30 min. Después del 4°. congelamiento-descongelamiento, los restos celulares se retiraron por centrifugación a $400 \times g$ durante 5 minutos. Se cuantificaron las preparaciones de IgG purificada y los lisados celulares, mediante el uso de un ensayo de proteína BCA (Pierce, Cat núm. 23225) de conformidad con las instrucciones del fabricante. Para crear preparaciones de medios acondicionados de inmuno complejos

20 estimulados, se aislaron PBMC de sangre heparinizada con sodio de donantes sanos mediante el uso de tubos de preparación celular (BD Vacutainer, Cat # 362753), se volvieron a suspender en medio RPMI 1640 (Life Technologies, Cat núm. 11875-085) + 10 % de FBS (Life Technologies, Cat núm. 16140-063) a 2×10^6 células/ml y se

colocaron en placas de 6 pocillos en un volumen de 2 ml/pocillo. Se premezcló la IgG purificada de sueros sanos y de pacientes con SLE con lisados celulares a concentraciones equivalentes de cada 500 ug/ml y se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos y después se adicionó a las PBMC en un volumen de 2 ml por pocillo y se incubó durante 24 horas a 37 °C. Las placas se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 minutos y se recolectó el medio acondicionado estimulado con el complejo inmune de PBMC, se dividió en alícuotas, y se almacenó a -80 °C para su uso futuro.

Ensayo de actividad

Las células HEK-Blue IFN α/β (Invivogen) se colocaron en placas de fondo plano de 96 pocillos a 50.000 células por pocillo en 200 μ l de DMEM (Life Technologies) + 10 % de suero bovino fetal (Life Technologies) y se incubaron durante 5 horas a 37 °C para permitir que las células se adhirieran a la placa. Después de 5 horas, las células Hek-Blue se sacaron de la incubadora y los sobrenadantes se reemplazaron con una dilución 1:6 del medio acondicionado de PBMC de donante 232 o con una dilución 1:81 de medio acondicionado de donante 293 (mediante el uso de medios de cultivo celular HEK-Blue como diluyente) con o sin los tratamientos siguientes: mAb antagonista anti-IFN- α amplio (M24, IgG1 humana) a 0,4, 2, 10, 50, y 100 μ g/ml en conjunto con concentraciones fijas de control de isotipo de 20 μ g/ml (R&D Systems, IgG1 murina), 100 μ g/ml de anti-IFN- α combinado con 20 μ g/ml de mAb antagonista de anti-IFN- ω (eBioscience, clon OMG5, IgG1 murina), o 100 μ g/ml de control de isotipo IgG1 humana (Southern Biotech) combinados con 20 μ g/ml del control de isotipo IgG1 murino. Las células

se incubaron durante la noche a 37 °C. Al día siguiente, se retiraron 40 µl del sobrenadante celular de cada pocillo y se añadieron a 160 µl del sustrato de fosfatasa alcalina Quanti-Blue (Invivogen) en placas de fondo plano de 96 pocillos. Los sobrenadantes se dejaron reaccionar con el sustrato durante 10 minutos, momento en el cual la placa se leyó en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 650 nm. Las densidades ópticas se representaron en GraphPad Prism

El bloqueo adicional de IFN- ω en presencia del antagonista de IFN- α resultó en la supresión mejorada de la actividad de IFN-I relevante en el SLE en relación al bloqueo de IFN- α solo (**Figura 2**). Como se esperaba, el medio acondicionado de los PBMC estimuladas con complejos inmunes de donantes sanos (medio acondicionado HV IC) no tenía actividad ISRE detectable lo que indica el potencial interferongénico de los complejos inmunes de los pacientes con SLE.

Ejemplo 3. Los efectos inmunomoduladores de IFN- ω son similares a los de IFN- α

Se evaluó la capacidad del IFN- ω de inducir la secreción de quimiocinas, la firma génica del IFN, la maduración y activación de las células dendríticas, y la maduración de las células B en comparación con el IFN- α . En estos estudios, el IFN- α A y el IFN- α 2, dos de las moléculas de IFN- α terapéutico que se usan más ampliamente, se usaron principalmente como representativos de los controles de los subtipos de IFN- α . En algunos ensayos, se usó IFN- α B2.

Inducción de la secreción de quimiocinas y de la firma génica del IFN

Las PBMC aisladas de 6 donantes humanos sanos individuales se estimularon con IFN- α A (IFN- α 2) o IFN- ω , y los sobrenadantes y los precipitados se recolectaron para los análisis. 3, 6 y 24 horas postratamiento. Se midió un panel de 25 citocinas a partir de los sobrenadantes mediante el uso de un inmunoensayo Luminex: IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-2R, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, TNF α , IFN- α , IFN- γ , GM-CSF, MIP-1 α , MIP-1 β , IP-10, MIG, Eotaxina, RANTES, y MCP-1. El IFN- ω y el IFN- α 2 mejoraron el nivel detectable de IP-10, MCP-1, IL-1RA, IL-6, MIP-1 α , y MIP-1 β . La Figura 3 muestra la inducción de IP-10 por el IFN- ω y el IFN- α 2. La secreción de IL-8 se redujo con ambos tratamientos en estos experimentos. Los niveles de IL-2R, IL-12 y RANTES no se alteraron por el tratamiento con IFN- ω o IFN- α (con la excepción de un donante que presentó un aumento de RANTES solamente). Todos los otros analitos del panel de citocinas no cambiaron con respecto al tratamiento con IFN- α o IFN- ω o estuvieron por debajo del límite de detección.

Los precipitados recolectados se procesaron para el ARN y se evaluaron mediante el uso de la firma de un panel de IFN de 21 genes por microarreglos para evaluar posibles similitudes y/o diferencias en la expresión inducida por IFN- ω e IFN- α . Las PBMC humanas tratadas con IFN- ω exhibieron respuestas de expresión génica cinéticas y cualitativas casi indistinguibles en comparación con las células tratadas con IFN- α A. El 92,5 % de los genes modulados por el tratamiento con IFN- α A en comparación con el control no tratado se modularon, además, por el tratamiento con IFN- ω a las 3 h. En los puntos de tiempo postratamiento de 6 y

24 h, el 97,83 % y 99,25 % de los genes modulados por el tratamiento con IFN- α también se modularon con el IFN- ω , respectivamente (no se muestran los datos).

En resumen, el IFN- α y el IFN- ω indujeron perfiles de expresión génica y la liberación de citocinas cualitativa indistinguible entre las preparaciones de PBMC que se obtuvieron de 6 donantes humanos sanos individuales lo que sugiere que pueden conferir efectos inmunomoduladores similares.

El IFN- ω induce la diferenciación de células dendríticas que inhiben los anticuerpos de bloqueo de IFN- ω

Se evaluó la capacidad del IFN- α y el IFN- ω de inducir la diferenciación de monocitos a DC y la funcionalidad.

Los monocitos purificados se diferenciaron a DC en presencia de GM-CSF solamente o con IFN- ω o IFN- α en presencia o ausencia de 50 μ g/ml de anti-IFN- α o anti-IFN- ω durante 3 días mediante el uso de métodos estándar. Las células se recolectaron y se analizaron para la expresión de marcadores de superficie por FACS de 8 colores. Tanto el IFN- α como el IFN- ω indujeron la expresión de los marcadores de superficie de DC característicos CD83, y CD80, CD86, CD40, CD11c, y redujeron la expresión del marcador de monocitos CD14. La adición de anti-IFN- α o anti-IFN- ω a una concentración de 50 μ g/ml al comienzo del cultivo inhibió parcialmente la diferenciación a DC mientras que no tuvo efecto el isotipo de anticuerpo (no se muestran los datos).

Se usó la reacción de linfocitos mixtos (MLR) para demostrar la funcionalidad de las DC diferenciadas. Las DC diferenciadas se recolectaron, se lavaron, se

resuspendieron en medio fresco, y se cultivaron con células T CD4⁺ purificadas a una relación DC:células T CD4⁺ de 1:10, 1:20, y 1:100. En el día 6 se recolectaron los sobrenadantes y se analizaron para determinar las citocinas secretadas mediante el uso del ensayo de perlas multiplexado para 26 citocinas/quimiocinas. Las DC diferenciadas en presencia de IFN- α o de IFN- ω activaron las células CD4⁺ como lo demuestra la secreción de las citocinas específicas de células T IFN- γ e IL-17. Las DC diferenciadas en presencia de anticuerpos anti-IFN- α o anti-IFN- ω no indujeron la activación de las células T CD4⁺. La **Figura 4A** muestra la falta de secreción de IFN- γ inducida a partir de las células CD4⁺ activadas por las DC diferenciadas en presencia de anticuerpos anti-IFN- α o anti-IFN- ω . La **Figura 4B** muestra la falta de secreción de IL-17 inducida a partir de células CD4⁺ activadas por las DC diferenciadas en presencia de anticuerpos anti-IFN- α o anti-IFN- ω . El IFN- α y el IFN- ω indujeron, además, la secreción de IL-4, IL-5, IL-12p40 e IL-13 (no se muestran los datos). Todas las condiciones de cultivo incluyeron GM-CSF. Los datos son representativos de 2 estudios. Las barras de error indican la SD de triplicados de Luminex. En el experimento que se muestra en la figura, los datos ilustraron que se usó una relación de DC a células T CD4 de 1:20.

El IFN- ω induce la activación de las células B independiente de las células T

Las células B desempeñan una función importante y crítica en la patogénesis del lupus a través de la producción de citocinas y autoanticuerpos patogénicos, y mediante la presentación de antígenos a las células T. La activación y la maduración funcional de las células B pueden ocurrir en una manera dependiente de las células T (TD) o independiente de las células T (TI). En las respuestas de las células B TI, las células B

se liberan del control de la tolerancia T dependiente ya que los ligandos TLR o las citocinas derivadas de células dendríticas son capaces de sustituir a la ayuda de las células T. En el SLE, en donde los ligandos TLR (p. ej., ADN bicatenario) y las citocinas derivadas de DC (p. ej., IFN tipo I) se cree que contribuyen a la patogénesis de la enfermedad, la activación de las células B TI representa un posible mecanismo relevante. Además de la producción de autoanticuerpos, se cree que las células B autoreactivas desempeñan importantes funciones patogénicas al presentar autoantígenos a las células T y secretar citocinas proinflamatorias. Se reportó que el IFN- α mejora la producción de IL-6 proinflamatoria por las células B activadas con anticuerpos contra el receptor de células B (BCR) y CpG (al imitar un antígeno específico y señales TLR, respectivamente) en ausencia de factores derivados de células T. Además, se demostró que el cocultivo con DC plasmacitoides mejora la activación de las células B como se determinó por medio de los niveles de expresión de CD86 que dependían de factores solubles. Se investigó la capacidad del IFN- ω de mejorar la expresión de CD-86 y la producción de citocinas proinflamatorias por células B humanas mediante el uso de un sistema de cultivo independiente de las células T. Las células B de sangre periférica se cultivaron con CpG (ODN-2006), anti-BCR, y CpG & anti-BCR, y concentraciones variables de IFN- α 2 (Alfa 2b) o IFN- ω como se indica (concentraciones de IFN en U/ml). La expresión de CD86 (niveles de fluorescencia medios) se determinó después de 3 días por citometría de flujo, y los sobrenadantes se analizaron por medio de un inmunoensayo Luminex 26-plex, que incluye a IL-6. Los resultados se expresaron como los valores medios de la SD $\pm$ de muestras duplicadas.

Se observó una regulación positiva inducida por el IFN- ω que depende de la dosis de la expresión de CD86 después de la estimulación con anti-BCR y anti-BCR/CpG con ambas muestras de donantes comprobadas, mientras que el cocultivo de linfocitos B sin estímulo mostró solo un efecto débil. El IFN- ω indujo la expresión de CD86 en un grado similar al del IFN- α 2B. La **Figura 5A** muestra la expresión de CD86 inducida por IFN- ω a partir de las células B de un donante. El IFN- ω induce, además, en una manera dependiente de la dosis, la producción de IL-6 después de la estimulación con CpG y anti-BCR/CpG a un grado similar al del IFN- α 2B con ambas muestras comprobadas. La **Figura 5B** muestra la secreción de IL-6 que se indujo por el IFN- ω a partir de las células B de un donante.

El IFN- ω induce la secreción de BLyS

BLyS (BAFF) es un factor de supervivencia de las células B y un objetivo validado clínicamente en el SLE humano. Se encontró que el tratamiento con IFN- α induce la expresión génica de BLyS *in vivo* como se determinó por medio de análisis por qPCR y microarreglos de PBMC aisladas de pacientes 24 h después de la dosificación. Por lo tanto, se evaluó la capacidad del IFN- ω de inducir la secreción de BLyS.

Las PBMC se aislaron a partir de dos donantes sanos normales diferentes. Se usaron concentraciones equivalentes de IFN- ω e IFN- α para estimular las células durante 72 horas momento en el que se recolectaron los sobrenadantes y se analizaron por ELISA para determinar el BLyS soluble. Los resultados se expresaron como valores medios de SD de muestras duplicadas $\pm$.

El IFN- ω y el IFN- α fueron igualmente competentes para inducir la secreción de BLyS en PBMC humanas *in vitro*. Los resultados de uno de los donantes se muestran en la **Figura 6**.

5 **Ejemplo 4 Generación de los antígenos de IFN de tipo I humanos usados en la inmunización, selección de fagos, caracterización de anticuerpos, y estudios de cristalografía**

20 IFN alfas tipo I humanos recombinantes que se muestran en la **Tabla 4** se clonaron y expresaron en células HEK 293 mediante el uso de métodos estándar con
 10 secuencias señal, tal como las secs. con núms. de ident.: 21-25. Las proteínas son humanas a menos que se indique algo diferente. Para mejorar el nivel de expresión y la solubilidad, se generó un mutante de un solo aminoácido en la posición 80 del IFN- ω humano, el IFN- ω T80E y se expresó en células HEK 293. La variante IFN- ω T80E (sec. con núm. de ident.: 2) tiene una actividad comparable a la de la proteína de tipo
 15 silvestre. El IFN- α D y el IFN- α 1 difieren en un aminoácido en la posición 114 (valina contra alanina). Alfa A y Alfa 2 difieren en un aminoácido en la posición 23 (lisina en Alfa A contra arginina en Alfa 2). Alfa 4 tiene dos formas, 4a y 4b que difieren en dos aminoácidos en la posición 51 (Alanina en Alfa 4a y treonina en Alfa 4b) y 114 (glutamato en Alfa 4a contra valina en Alfa 4b). Estas variaciones se localizan fuera de
 20 la región de unión al receptor y no afectan la actividad. Se encontró que los anticuerpos neutralizan estos pares de variantes (α D/ α 1, α A/ α 2 y α 4a/ α 4b) igualmente bien y posteriormente, en algunos experimentos, solo se usó un antígeno de cada par.

Tabla 4.

Proteína IFN	Nombre Alternativo	Código de Acceso al GenBank Adoptado	Sec. con núm. de ident.:
IFN- α A	IFN- α 2a	V00549	5
IFN- α B2	IFN- α 8	X03125	6
IFN- α C	IFN- α 10	NM_002171.1	7
IFN- α D	Val114 IFN- α 1	V00538	8
IFN- α F	IFN- α 21	V00540	9
IFN- α G	IFN- α 5	X02956	10
IFN- α H2	IFN- α 14	X02959	11
IFN- α I	IFN- α 17	V00532	12
IFN- α J1	IFN- α 7	X02960	13
IFN- α K	IFN- α 6	X02958	14
IFN- α 4b	IFN- α 4	X02955	15
IFN- α WA	IFN- α 16	X02957	16
IFN- α 2	IFN- α 2b	V00548, NM_00605.2	17
IFN- α 1	Ala114 IFN- α D	J00210	18
IFN- α 4a	IFN- α M1	NM_021068	19
IFN- β		V00534	20
IFN- ω		NM_002177.1	1
IFN- ω T80E			2
IFN- ω de chimpancé		XM_528554.1	3
IFN- ω de cino		NA	4

Ejemplo 5. Generación de anticuerpos que se unen al IFN- ω y a IFN- α

- 5 Se seleccionaron Fabs que se unen a IFN- α e IFN- ω a partir de genotecas de expresión en fagos pIX de de nuevo como se describe en Shi y colaboradores, J Mol Biol 397:385-96, 2010; publicación internacional de patente núm. WO2009/085462; publicación internacional de patente de los EE. UU. núm.

US2010/0021477). Brevemente, se generaron las genotecas mediante la diversificación de los supercóntigos humanos donde se recombinaron los genes VH de la línea germinal IGHV1-69*01, IGHV3-23*01, e IGHV5-51*01 con el minigen IGHJ-4 a través del lazo H3, y se recombinaron los genes VLkappa de la línea

5 germinal humana O12 (IGKV1-39*01), L6 (IGKV3-11*01), A27 (IGKV3-20*01), y B3 (IGKV4-1*01) con el minigen IGKJ-1 para ensamblar los dominios VH y VL completos. Se seleccionaron para la diversificación las posiciones en las regiones variables de las cadenas pesada y liviana alrededor de los lazos H1, H2, L1, L2 y L3 que corresponden a las posiciones que se identifican que están frecuentemente

10 en contacto con los antígenos de las proteínas y péptidos. La diversidad de secuencia en las posiciones seleccionadas se limitó a los residuos en cada una de las posiciones de las familias de genes de la línea germinal IGHV o IGLV de los respectivos genes IGHV o IGLV. La diversidad en el lazo H3 se generó mediante el uso de lazos sintéticos de tamaño corto a mediano de longitudes de 7-14

15 aminoácidos. La distribución de aminoácidos en H3 se diseñó para simular la variación observada de aminoácidos en los anticuerpos humanos. El diseño de la genoteca se detalla en Shi y colaboradores, J Mol Biol 397:385-96, 2010. Los supercóntigos que se usaron para generar las genotecas se denominaron de conformidad con el origen de los genes de la línea germinal de VH y VL humanos.

20 Las tres genotecas de cadena pesada se combinaron con las cuatro cadenas livianas de la línea germinal o con las genotecas de cadena liviana de la línea germinal para generar 12 combinaciones únicas de VH: VL para los experimentos de selección contra IFN- ω e IFN- α .

Las genotecas se seleccionaron ya sea contra el IFN- α 2 humano biotinilado o el IFN- α G humano biotinilado. Después de tres rondas de selección, se realizó un ELISA de fagos policlonal con el uso de IFN- α 2, IFN- α G y de IFN- ω de mono cinomólogo como antígenos para detectar el enriquecimiento específico de cada uno de los experimentos de selección. Los fagos recolectados de los experimentos de selección que demostraron un enriquecimiento de enlazadores a IFN- α 2, IFN- α G e IFN- ω se analizaron, además, con un ELISA con un Fab monoclonal en el que se usaron las proteínas Fab expresadas de clones de Fab individuales como enlazadores. Los clones Fab con señal de unión al antígeno biotinilado 20 nM tres veces más alto que el control negativo se seleccionaron para análisis secundario de Fab. Los Fabs seleccionados se clonaron en un fondo IgG1/k y se caracterizaron, además, mediante el uso de un ensayo de genes reporteros ISRE y ProteOn. De estos ensayos, se seleccionó el mAb IFWM371 para su posterior modificación genética y maduración por afinidad.

La **Tabla 5** muestra los valores de afinidad (K_D) y de IC_{50} de IFWM371 medidos mediante el uso del ensayo de genes reporteros ISRE y ProteOn para diversos IFN de tipo I así como IFN- β . Excepto el IFN- α 1 (IFN- α D), el IFWM371 se une a todas las proteínas IFN-alfa humanas que se probaron en un intervalo de 179 pM-10 nM. Los anticuerpos no se unieron al IFN- α 1 (IFN- α D). El anticuerpo se unió, además, al IFN- ω humano, de chimpancé y de mono cinomólogo pero no se unió al IFN- β . El IFWM371 demostró actividad neutralizante de todas las moléculas de IFN- α evaluadas excepto el IFN- α 1 (α D), al que no neutralizó el anticuerpo. El IFWM371 contiene la VH IFWH591 (sec. con núm. de ident.: 28) y la VL PH9L4 (línea germinal O12) (sec. con núm. de ident.: 29).

Tabla 5.

	K _D (pM)	IC ₅₀ (nM)
IFN-αA	813	8,4
IFN-αB2	1140	19,3
IFN-αC	1670	53,9
IFN-αD	NB	NN
IFN-αF	5310	16
IFN-αG	1110	12,9
IFN-αH2	179	9,6
IFN-αJ1	10800	35,7
IFN-αK	245	7,3
IFN-αWA	3180	74,2
IFN-α4a	5390	32,8
IFN-B	NB	NN
IFN-ω de chimpancé	1080	
IFN-ω de cino	887	
IFN-ω humano	ND	43,9

NB: sin unión

ND: no realizado

NN: no neutralizante

Ejemplo 6. Estructura cristalina de IFWM371 en complejo con IFN-ω T80E

5 Con el objetivo de revelar el epítipo y paratopo, la base estructural para su amplia especificidad de unión con los subtipos del IFN-α y IFN-ω, y para proporcionar soporte para la ingeniería genética para mejorar la afinidad y especificidad, se realizó el estudio de cristalografía del IFN-ω T80E en complejo con el Fab de IFWM371.

10 El Fab de IFWM371 marcado con His (isotipo IgG1/kappa) se clonó y se expresó en células HEK293 y se purificó con el uso de cromatografía de afinidad, intercambio iónico y exclusión de tamaños. El Fab se recolectó en Tris 20 mM pH

7,4, NaCl 50 mM. La variante IFN- ω T80E humana (en lo sucesivo simplemente IFN- ω) con una etiqueta 6xHis C terminal se expresó en células HEK293. La proteína se recolectó en Tris 20 mM, pH 7,4, NaCl 50 mM.

El complejo se preparó mediante la mezcla de IFN- ω con el Fab IFWM371 en una relación molar 1,2:1,0 (exceso de IFN- ω), se incubó a 4 °C durante toda la noche, y se purificó en una columna Superdex 200 equilibrada con HEPES 20 mM, pH 7,5, NaCl 0,25 M, y después se concentró a 9,96 mg/ml mediante el uso de un Amicon-Ultra de 10 kDa de valor de corte. Se obtuvieron cristales adecuados para difracción de rayos X de la siembra con 20 % de PEG 3K, fosfato amónico dibásico 0,2 M con MMS, (Obmolova, G., Malia, T. J., Teplyakov, A., Sweet, R. & Gilliland, G. L. (2010). Promoting crystallization of antibody-antigen complexes via microseed matrix screening. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* **66**, 927-33.).

Para la recolección de los datos de rayos X, un cristal del complejo IFN- ω /Fab IFWM371 se empapó durante unos pocos segundos en el licor madre (20 % de PEG 3350, (NH₄)₂HPO₄ 0,2 M, pH 7,9) suplementado con 20 % de glicerol, y se ultracongeló en la corriente de nitrógeno a 100 K. Los datos de difracción de rayos X se recolectaron mediante el uso de un generador de rayos X de microfoco Rigaku MicroMax™-007HF provisto de una óptica confocal Osmic™ VariMax™, un detector Saturn 944 CCD, y un sistema de crioenfriamiento X-stream™ 2000 (Rigaku, TX). Las intensidades de difracción se detectaron sobre una rotación del cristal de 205° en imágenes de cuarto grado. Los datos de rayos X se procesaron con el programa XDS. Las estadísticas de los datos de rayos X se dan en la **Tabla 6**.

La estructura del complejo IFN- ω /Fab IFM371 se resolvió mediante reemplazo molecular (MR) con Phaser. Los modelos de búsqueda para MR fueron la estructura cristalina de Fab15 (PDB ID 3NA9; Luo, J., Obmolova, G., Huang, A., Strake, B., Teplyakov, A., Malia, T., Muzammil, S., Zhao, Y., Gilliland, G. L. & Feng, Y. (2010).

- 5 Coevolution of antibody stability and Vkappa CDR-L3 canonical structure. *J Mol Biol* **402**, 708-19) e IFN- α 4A. Sin embargo, no pudo obtenerse una solución MR para IFN- ω debido a graves choques intermoleculares. La inspección del mapa de densidad electrónica en fase con el Fab IFWM371 solo demostró que está ausente la densidad electrónica en más de la mitad de la molécula de IFN- ω . Sin embargo, la parte restante
- 10 de la molécula de IFN- ω se ajustó fácilmente en la densidad. La estructura se refinó después con PHENIX y se efectuaron ajustes del modelo mediante el uso de COOT.

Tabla 6.

<i>Datos de cristal</i>	
Grupo espacial	C2
Dimensiones de celda unitaria	
a, b, c (Å)	153,84, 69,84, 54,69
α , β , γ (°)	90, 106,87, 90
Contenido de unidad asimétrica	complejo 1
<i>Datos de rayos X</i>	
Resolución (Å)	50-1,81 (1,85-1,81)
Número de reflexiones medidas	175,220 (1,217)
Número de reflexiones únicas	43.466 (588)
Integridad (%)	85,20 (39,5)
R _{merge}	0,056 (0,321)
<I/ σ >	16,1 (3,1)
Factor B (trazado de Wilson) (Å ²)	20,1

Refinamiento

Resolución (Å)	30,6-1,81 (1,84-1,81)
Número de refl usados en el refinamiento	43.463 (1113)
Número de todos los átomos	4.594
Número de moléculas de agua	481
Rcrist (%)	18,3 (25,9)
Rlibre (%)	21,5 (38,1)
Longitudes de unión RMSD (Å)	0,002
Ángulos de unión RMSD (°)	0,73
cadena principal del factor B RMSD (Å ²)	5,6
Media del factor B (Å ²)	26,0
Proteína	23,2
Disolvente	38,0
MolProbity [25]	
Calificación de choques	6,8
Valores atípicos de rotámero (%)	1,2
Ramachandran favorecido (%)	98,5
Valores atípicos de Ramachandran (%)	0,0
Desviación C β > 0,25 Å	0

*Los valores de la estructura de alta resolución están entre paréntesis

La estructura molecular completa del complejo IFN- ω /Fab IFWM371 se muestra en la **Figura 7A**. Hubo un complejo en la unidad asimétrica. El modelo molecular para la molécula de IFN- ω incluye los residuos 23-39 y 119-153, que corresponden al segmento AB helicoidal y a las hélices D y E. La numeración de los residuos se realizó de conformidad con la secuencia de aminoácidos del IFN- ω con la sec. con núm. de ident.: 1. Las hélices A, B y C y los lazos de conexión estaban desordenados. El modelo molecular del Fab contenía los residuos del 1 al 212 de la cadena ligera (sec. con núm. de ident.: 29) y del 1 al 222 de la cadena pesada (sec. con núm. de ident.: 28). La etiqueta 6xHis C-terminal, el enlace disulfuro entre las cadenas y los residuos de 137-141 de la cadena pesada estaban

desordenados. Además, hubo un número de moléculas de agua en la interfaz anticuerpo/antígeno que formaron una extensa red de enlaces de H (**Figura 7B**).

Las partes observadas de la molécula de IFN- ω eran casi idénticas a las partes correspondientes del modelo de longitud completa de un IFN- ω publicado (PDB id 3se4, C α rmsd de 0,54 Å para 40 residuos) y muy similar al IFN- α 2 con un promedio de C α rmsd de 0,42 Å (seis moléculas de IFN- α 2, código pdb 1rh2) para aproximadamente 40 átomos de C α . El modelo de IFN- ω en el IFN- ω /FAB IFWM371 contenía solo partes de las hélices C y D así como del lazo de conexión (lazo AB). Las otras partes se encontraban ausentes en la densidad electrónica.

Los análisis de empaquetamiento del cristal demostraron que no había suficiente espacio para las hélices faltantes. El análisis cuidadoso de los datos de difracción indicó que esto no fue un artefacto debido a anomalías tales como fusión o asignación incorrecta de los grupos espaciales. Por lo tanto, es más probable que la proteína de IFN- ω se escindiera durante el proceso de cristalización.

El Fab IFWM371 reconoció un epítipo conformacional que está compuesto por los residuos del lazo AB (entre S25 y D35) y los residuos M146, y K150 de la hélice E (**Figura 8A**). El paratopo está compuesto por los residuos de cinco CDR a excepción de LCDR2. Los residuos del paratopo forman una serie de bolsas en las que se acoplan las cadenas laterales de los residuos F27, L30, y R33 de la hélice AB corta del IFN- ω . La **Figura 8B** muestra los residuos del paratopo en la VL y VH del IFWM371. Las interacciones del anticuerpo y el antígeno parecen ser casi completamente de empaquetamiento hidrofóbico y de van der Waals (vdw) así como enlaces H entre el anticuerpo y el antígeno. La **Figura 8C** muestra una mapa de interacción 2D entre las

interacciones de IFN- ω e IFWM371. En la figura, se resaltan los residuos del epítipo de IFN- ω en gris, los residuos del paratopo de VL se enmarcan con una caja cuadrada, y los residuos del paratopo de VH se enmarcan con un círculo. La figura demuestra que la mayoría de las interacciones antígeno/anticuerpo se forman por los tres residuos del epítipo F27, L30 y R33 de la hélice AB del IFN- ω . Por lo tanto, esta

5 region del IFN- ω constituye la parte principal del epítipo. Otra característica de este complejo es que las moléculas de agua parecen desempeñar una función importante de mediación en el reconocimiento del antígeno. Tres grupos de agua (WCs) estaban presente en la interfaz. WC1 contribuía a las interacciones por enlace H entre HCDR3

10 y R34, F36 y E147 del IFN- ω . WC2 mediaba el emparejamiento VH/VL y el enlace H entre Fv y los principales residuos del epítipo L30, R33 y sus vecinos. Las moléculas de agua del WC3 estaban en la periferia de la interfase, probablemente menos importante para las interacciones.

IFWM371 se une fuertemente a un número de subtipos de IFN- α y de IFN- ω

15 excepto al IFN- α Do IFN- α 1. IFWM371 no se une a IFN- β . El alineamiento de secuencias de los IFNs se muestra en la **Figura 9**. Los residuos del epítipo de IFWM371 son mayormente conservados entre los subtipos, lo que sugiere que la amplia especificidad de IFWM371 es un resultado de la conservación del epítipo. El IFN- α D o IFN- α 1, sin embargo, a los que no se une IFWM371, contiene S27 en lugar

20 de F27, lo que conduce a la pérdida de la mayor parte de los contactos hidrofóbicos de la cadena lateral de F27. Dado que F27 se acopla en un bolsillo profundo formado por los residuos de HCDR2, HCDR3 y LCDR3, la pérdida de los contactos de la cadena lateral probablemente contribuye a la muy baja o ninguna unión de las

proteínas IFN- α D e IFN- α 1. Esto sugiere, además, que F27 es uno de los residuos de unión de “punto caliente”. P26 es un residuo que se conserva menos. Un residuo de His o Leu ocupa esta posición en varios subtipos de IFN- α . Debido a las diferencias de forma y tamaño, este residuo puede influenciar significativamente las interacciones locales entre IFWM371 y IFN- α con estas mutaciones.

Ejemplo 7. Exploración de alanina de IFWM371

La exploración de alanina de los residuos de las CDR de las cadenas ligera y pesada de IFWM371 se realizó para guiar los subsiguientes esfuerzos de maduración por afinidad. Todos los residuos en las CDR de las cadenas pesada y ligera se remplazaron con alanina excepto algunos residuos de baja exposición al solvente o de ninguna exposición al solvente. Cuando los residuos nativos en las CDR fueron alanina, se reemplazaron con tirosina y/o serina y/o ácido aspártico. Una posición con posibles contingencias de desarro, (W104 en IFWH591, sec. con núm. de ident.: 28) se reemplazó con alanina, tirosina, serina, y ácido aspártico. Los mAbs mutados se expresaron transitoriamente en células HEK 293 y los sobrenadantes celulares se comprobaron para determinar la actividad de unión a un panel de IFN mediante ELISA. Dos V_H mutantes, IFWH591 R59A (sec. con núm. de ident.: 30) e IFWH591 N103A (sec. con núm. de ident.: 31), tenían significativamente una unión mejorada en comparación con el mAb parental.

Ejemplo 8. Maduración por afinidad de IFWM371

Diseño de la genoteca

Se diseñaron dos genotecas distintas de V_L (PH9L4L2 y PH9L4L3) y se usaron para madurar por afinidad en IFWM371 a la cadena ligera PH9L4 (O12) (sec. con núm. de ident.: 29). Las posiciones elegidas para la diversificación de la genoteca PH9L4L2 se basaron en posiciones de residuos que se encuentran frecuentemente en complejos antiproteína y antipéptido. Los residuos que se usaron para diversificar cada posición se codificaban dentro la familia de genes en la línea germinal de los genes IGKV (Shi y colaboradores (2010) J. Mol. Biol. 397:385-96). La complejidad de la genoteca se limitó para que no exceda 10⁷ miembros de la genoteca de modo que la diversidad puede ser completamente evaluada durante la maduración por afinidad (la complejidad real de la genoteca: 3,5⁷). La **Tabla 7** muestra el esquema de diversificación del diseño de la genoteca para las posiciones de LCDR1 30, 31 y 32, posición de LCDR2 50 y posiciones de LCDR3 91, 92, 93, 94 y 96 de la V_L PH9L4 (O12) en la genoteca. La numeración de residuos se realizó de conformidad con Kabat.

Tabla 7.

Posición de aminoácidos en O12 (sec. con núm. de ident.: 29)	Diversificadas con aminoácido
Ser30	S, R, N, A, D
Ser31	N, S, K, D, G
Tyr32	Y, W, D, F, H, S, N, A, V
Ala50	A, D, G, K, Y, F, T, N
Ser91	Y, S, H, A
Tyr92	Y, N, D, S, H, I, F, K, G, R, E
Ser93	S, N, T, D, G, H, R
Thr94	T, Y, L, V, F, S, R, G, P, I
Leu96	W, Y, F, L, I, R, N

Las posiciones de los residuos a diversificar en la segunda genoteca de maduración por afinidad de la cadena ligera, PH9L4L3, se seleccionaron en base en el análisis de las estructuras entre los complejos anticuerpo-proteína y la diversidad en cada posición se diseñó en base al análisis de las estructuras proteicas de los anticuerpos así como al uso de los aminoácido en los genes de la línea germinal para cada posición (G. Raghunathan y colaboradores, Antigen-binding site anatomy and somatic mutations in antibodies that recognize different types of antigens. *J. Mol Recognit.* 25:103-113 (2012). Para la LCDR3, la diversidad se extendió más allá del repertorio natural para asegurar que cada posición tuviera aminoácidos de propiedades bioquímicas diferentes (es decir, polar/no polar, cargado positivamente/negativamente). Adicionalmente, se varió la frecuencia relativa de cada aminoácido por posición lo que se hizo posible mediante el uso de la tecnología de síntesis de genotecas *Sloning*. La **Tabla 8** muestra la composición de la genoteca de PH9L4L3. La numeración de residuos se realizó de conformidad con Kabat.

Tabla 8.

Posición de aminoácidos en O12 (sec. con núm. de ident.: 29)	Diversificadas con aminoácido
Ser30	S, R, N, A, D
Ser31	N, S, T
Tyr32	Y, N, D, S, R
Tyr49	Y, K, E, H
Ala50	A, Y, W, S, G, N
Ser91	S, H, W, Y, E, A, G, D, N, R
Tyr92	Y, R, H, W, E, A, G, D, N, R

Ser93	S, H, W, Y, E, A, G, D, N, R
Thr94	T, S, H, W, Y, E, A, D, N, R, G
Leu96	W, Y, F, L, I

Selección y caracterización

Se generaron genotecas de maduración por afinidad mediante la combinación de las genotecas de cadena ligera PH9L4L2 o PH9L4L3 con la cadena pesada parental

5 IFWH591 (sec. con núm. de ident.: 28). Las genotecas se usaron después para seleccionar los anticuerpos de afinidad alta. Algunos de los experimentos de selección de maduración por afinidad resultaron en mejoras tendenciosas en la unión ya sea solo a IFN- ω o solo a unos pocos subtipos de IFN- α pero no a ambos. Con el fin de generar anticuerpos ampliamente neutralizantes con mejor IC₅₀ para la mayoría de los subtipos

10 de IFN- α e IFN- ω , se sometió a selección alternativamente un subconjunto de subtipos de IFN- α que fueron más diversificados entre sí (IFN- α 2, IFN- α 4a, IFN- α F e IFN- α G), con IFN- ω humano o de mono cinomólogo entre cada ronda de selección. Un total de tres rondas de selección se llevaron a cabo para cada experimento de selección.

Las proteínas Fab de los clones individuales se expresaron en *E. coli* TG-1 y

15 se usaron los lisados celulares bacterianos para los ELISA de Fab para determinar sus afinidades por los IFN- α 4a, IFN- α F e IFN- ω en comparación con IFWM371. Al tener en cuenta que los Fab IFWM371 unen estos antígenos débilmente, se usó el Fab IFWF477 que tiene una mayor afinidad por los antígenos como el Fab sustituto para la comparación. Se identificaron 42 clones que exhibieron actividades de

20 unión superiores en varias veces respecto al Fab sustituto en ELISA. Algunas variantes contenían una inserción de aminoácido en la LCDR1 que no había sido

parte del diseño de la genoteca original pero que se introdujo durante la síntesis de la genoteca. Generalmente, la la maduración por afinidad de la V_L resultó en una mejora significativa en la unión en comparación con el Fab sustituto. Los mejores clones de las dos genotecas mostraron una actividad de unión más de 23 veces

5 más alta por el IFN- ω humano que el FAB IFWF477 sustituto respectivamente.

Para una caracterización funcional y biofísica adicional, un total de 42 cadenas ligeras derivadas de las genotecas se aparearon con la cadena pesada parental IFWH591 (sec. con núm. de ident.: 28) así como con dos variantes de V_H con actividad de unión mejorada, IFWH624 (IFWH591 R59A sec. con núm. de

10 ident.: 30) e IFWH629 (IFWH591 N103A, sec. con núm. de ident.: 31), identificadas a partir del experimento de exploración de alanina descrito en el Ejemplo 7. Un total de 126 mAbs convertidos (42 cadenas ligeras emparejadas con tres cadenas pesadas) se expresaron después y se caracterizaron adicionalmente. La **Tabla 9** muestra el anticuerpo parental y los anticuerpos maduros por afinidad

15 seleccionados y sus regiones variables de cadena pesada y liviana.

Tabla 9.

Nombre del anticuerpo		VL	VH	VH	VL
Nombre de la proteína ADNc	Nombre del aminoácido de la proteína	Nombre del Péptido	Nombre del Péptido	Sec. con núm. de ident.:	Sec. con núm. de ident.:
IFWM371	IFWB351	PH9L4	IFWH591	28	29
IFWM3301	IFWB3036	IFWL983	IFWH591	28	32
IFWM3302	IFWB3037	IFWL991	IFWH591	28	33
IFWM3303	IFWB3038	IFWL992	IFWH591	28	34

IFWM3304	IFWB3039	IFWL997	IFWH591	28	35
IFWM3305	IFWB3040	IFWL998	IFWH591	28	36
IFWM3291	IFWB3026	IFWL999	IFWH591	28	37
IFWM3306	IFWB3041	IFWL1000	IFWH591	28	38
IFWM3307	IFWB3042	IFWL1001	IFWH591	28	39
IFWM3308	IFWB3043	IFWL1004	IFWH591	28	40
IFWM3309	IFWB3044	IFWL1006	IFWH591	28	41
IFWM3310	IFWB3045	IFWL1007	IFWH591	28	42
IFWM3311	IFWB3046	IFWL1009	IFWH591	28	43
IFWM3312	IFWB3047	IFWL1010	IFWH591	28	44
IFWM3313	IFWB3048	IFWL1013	IFWH591	28	45
IFWM3314	IFWB3049	IFWL1014	IFWH591	28	46
IFWM3315	IFWB3050	IFWL1017	IFWH591	28	47
IFWM3316	IFWB3051	IFWL1022	IFWH591	28	48
IFWM3317	IFWB3052	IFWL1026	IFWH591	28	49
IFWM3318	IFWB3053	IFWL1038	IFWH591	28	50
IFWM3319	IFWB3054	IFWL1041	IFWH591	28	51
IFWM3320	IFWB3055	IFWL1047	IFWH591	28	52
IFWM3321	IFWB3056	IFWL1048	IFWH591	28	53
IFWM3322	IFWB3057	IFWL1051	IFWH591	28	54
IFWM3323	IFWB3058	IFWL1053	IFWH591	28	55
IFWM3325	IFWB3060	IFWL1060	IFWH591	28	56
IFWM3327	IFWB3062	IFWL1063	IFWH591	28	57
IFWM3328	IFWB3063	IFWL1064	IFWH591	28	58
IFWM3329	IFWB3064	IFWL1067	IFWH591	28	59
IFWM3330	IFWB3065	IFWL1071	IFWH591	28	60
IFWM3331	IFWB3066	IFWL1073	IFWH591	28	61
IFWM3332	IFWB3067	IFWL1074	IFWH591	28	62
IFWM3333	IFWB3068	IFWL1076	IFWH591	28	63
IFWM3334	IFWB3069	IFWL1082	IFWH591	28	64
IFWM3335	IFWB3070	IFWL1084	IFWH591	28	65
IFWM3336	IFWB3071	IFWL1085	IFWH591	28	66
IFWM3337	IFWB3072	IFWL1087	IFWH591	28	67
IFWM3338	IFWB3073	IFWL1091	IFWH591	28	68
IFWM3339	IFWB3074	IFWL1093	IFWH591	28	69
IFWM3340	IFWB3075	IFWL983	IFWH624	30	32
IFWM3341	IFWB3076	IFWL991	IFWH624	30	33

IFWM3342	IFWB3077	IFWL992	IFWH624	30	34
IFWM3343	IFWB3078	IFWL997	IFWH624	30	35
IFWM3344	IFWB3079	IFWL998	IFWH624	30	36
IFWM3292	IFWB3027	IFWL999	IFWH624	30	37
IFWM3345	IFWB3080	IFWL1000	IFWH624	30	38
IFWM3346	IFWB3081	IFWL1001	IFWH624	30	39
IFWM3347	IFWB3082	IFWL1004	IFWH624	30	40
IFWM3348	IFWB3083	IFWL1006	IFWH624	30	41
IFWM3349	IFWB3084	IFWL1007	IFWH624	30	42
IFWM3350	IFWB3085	IFWL1009	IFWH624	30	43
IFWM3351	IFWB3086	IFWL1010	IFWH624	30	44
IFWM3352	IFWB3087	IFWL1013	IFWH624	30	45
IFWM3353	IFWB3088	IFWL1014	IFWH624	30	46
IFWM3354	IFWB3089	IFWL1017	IFWH624	30	47
IFWM3355	IFWB3090	IFWL1022	IFWH624	30	48
IFWM3356	IFWB3091	IFWL1026	IFWH624	30	49
IFWM3357	IFWB3092	IFWL1038	IFWH624	30	50
IFWM3358	IFWB3093	IFWL1041	IFWH624	30	51
IFWM3359	IFWB3094	IFWL1047	IFWH624	30	52
IFWM3360	IFWB3095	IFWL1048	IFWH624	30	53
IFWM3361	IFWB3096	IFWL1051	IFWH624	30	54
IFWM3364	IFWB3099	IFWL1060	IFWH624	30	56
IFWM3366	IFWB3101	IFWL1063	IFWH624	30	57
IFWM3367	IFWB3102	IFWL1064	IFWH624	30	58
IFWM3368	IFWB3103	IFWL1067	IFWH624	30	59
IFWM3369	IFWB3104	IFWL1071	IFWH624	30	60
IFWM3370	IFWB3105	IFWL1073	IFWH624	30	61
IFWM3371	IFWB3106	IFWL1074	IFWH624	30	62
IFWM3372	IFWB3107	IFWL1076	IFWH624	30	63
IFWM3374	IFWB3109	IFWL1084	IFWH624	30	65
IFWM3375	IFWB3110	IFWL1085	IFWH624	30	66
IFWM3376	IFWB3111	IFWL1087	IFWH624	30	67
IFWM3377	IFWB3112	IFWL1091	IFWH624	30	68
IFWM3378	IFWB3113	IFWL1093	IFWH624	30	69
IFWM3379	IFWB3114	IFWL983	IFWH629	31	32
IFWM3380	IFWB3115	IFWL991	IFWH629	31	33
IFWM3381	IFWB3116	IFWL992	IFWH629	31	34

IFWM3382	IFWB3117	IFWL997	IFWH629	31	35
IFWM3383	IFWB3118	IFWL998	IFWH629	31	36
IFWM3293	IFWB3028	IFWL999	IFWH629	31	37
IFWM3384	IFWB3119	IFWL1000	IFWH629	31	38
IFWM3385	IFWB3120	IFWL1001	IFWH629	31	39
IFWM3386	IFWB3121	IFWL1004	IFWH629	31	40
IFWM3387	IFWB3122	IFWL1006	IFWH629	31	41
IFWM3388	IFWB3123	IFWL1007	IFWH629	31	42
IFWM3389	IFWB3124	IFWL1009	IFWH629	31	43
IFWM3390	IFWB3125	IFWL1010	IFWH629	31	44
IFWM3391	IFWB3126	IFWL1013	IFWH629	31	45
IFWM3392	IFWB3127	IFWL1014	IFWH629	31	46
IFWM3393	IFWB3128	IFWL1017	IFWH629	31	47
IFWM3394	IFWB3129	IFWL1022	IFWH629	31	48
IFWM3395	IFWB3130	IFWL1026	IFWH629	31	49
IFWM3396	IFWB3131	IFWL1038	IFWH629	31	50
IFWM3397	IFWB3132	IFWL1041	IFWH629	31	51
IFWM3398	IFWB3133	IFWL1047	IFWH629	31	52
IFWM3399	IFWB3134	IFWL1048	IFWH629	31	53
IFWM3400	IFWB3135	IFWL1051	IFWH629	31	54
IFWM3401	IFWB3136	IFWL1053	IFWH629	31	55
IFWM3403	IFWB3138	IFWL1060	IFWH629	31	56
IFWM3405	IFWB3140	IFWL1063	IFWH629	31	57
IFWM3406	IFWB3141	IFWL1064	IFWH629	31	58
IFWM3407	IFWB3142	IFWL1067	IFWH629	31	59
IFWM3408	IFWB3143	IFWL1071	IFWH629	31	60
IFWM3409	IFWB3144	IFWL1073	IFWH629	31	61
IFWM3410	IFWB3145	IFWL1074	IFWH629	31	62
IFWM3411	IFWB3146	IFWL1076	IFWH629	31	63
IFWM3413	IFWB3148	IFWL1084	IFWH629	31	65
IFWM3414	IFWB3149	IFWL1085	IFWH629	31	66
IFWM3415	IFWB3150	IFWL1087	IFWH629	31	67
IFWM3416	IFWB3151	IFWL1091	IFWH629	31	68
IFWM3417	IFWB3152	IFWL1093	IFWH629	31	69
IFWM3418	IFWB3153	IFWL1049	IFWH591	28	70
IFWM3419	IFWB3154	IFWL1049	IFWH629	31	70
IFWM3420	IFWB3155	IFWL1049	IFWH624	30	70

IFWM3421	IFWB3156	IFWL984	IFWH591	28	71
IFWM3423	IFWB3158	IFWL984	IFWH629	31	71

Las afinidades de los 126 mAb generados para un panel de IFN- ω humano y los subtipos de IFN- α humano se midieron mediante ProteOn. Los mAb fueron transfectados transitoriamente por triplicado junto con los controles en células HEK293E en placas de 48 pocillos y sobrenadantes celulares se usaron en este experimento. Para aumentar el rendimiento del ensayo, solo se usó una concentración del antígeno individual. La **Tabla 10** muestra los valores de K_D para IFWM371 parentales y anticuerpos maduros de afinidad seleccionados. La mayoría de los mAb mostraron una mejora significativa de la afinidad de unión a todos los antígenos probados. Algunos de ellos mostraron una mejora de más de 100 veces respecto a los mAb parentales.

Tabla 10.

Nombre de la proteína ADNc	K_D (pM)								
	IFN- ω	IFN- α C	IFN- α F	IFN- α J1	IFN- α 4a	IFN- α B2	IFN- α G	IFN- α WA	IFN- α 2
IFWM371	1060	865	775	4230	4180	418	263	1390	116
IFWM3301	18	24	29	74	146	39	29	79	42
IFWM3302	52	83	72	231	268	54	98	168	250
IFWM3303	13	79	134	157	299	32	82	168	63
IFWM3304	32	26	32	53	120	40	37	92	23
IFWM3305	31	114	113	154	223	17	127	201	245
IFWM3291	28	45	51	122	317	60	67	125	82
IFWM3306	20	27	25	86	147	30	29	70	38
IFWM3307	46	62	55	305	426	55	58	162	132
IFWM3308	38	52	53	203	246	49	45	99	109
IFWM3309	55	109	140	275	383	41	120	139	96

IFWM3310	65	57	40	101	177	63	54	91	384
IFWM3311	12	36	21	56	223	16	56	72	134
IFWM3312	13	22	20	68	144	22	13	38	35
IFWM3313	56	74	84	221	354	74	118	155	295
IFWM3314	20	26	21	39	92	16	28	42	57
IFWM3315	63	59	50	134	240	92	61	115	192
IFWM3316	42	42	33	70	168	57	87	73	123
IFWM3317	16	133	121	206	370	11	126	162	223
IFWM3318	18	30	34	119	252	48	40	91	64
IFWM3319	34	52	44	151	274	76	49	107	152
IFWM3320	21	20	13	61	89	26	33	41	24
IFWM3321	33	33	24	79	159	45	36	58	90
IFWM3322	40	42	33	127	272	56	58	86	37
IFWM3323	73	77	48	144	337	77	94	121	104
IFWM3325	11	22	32	92	111	6	33	91	55
IFWM3327	39	34	35	113	164	60	35	106	60
IFWM3328	108	99	91	360	410	132	72	207	482
IFWM3329	59	50	51	166	258	95	61	173	532
IFWM3330	45	112	366	631	375	58	82	175	38
IFWM3331	15	12	13	72	85	21	15	26	33
IFWM3332	34	31	54	135	139	55	50	76	68
IFWM3333	53	65	89	607	477	137	77	258	457
IFWM3334	345	620	5210	2400	744	436	941	517	86
IFWM3335	42	49	61	245	336	111	77	137	151
IFWM3336	19	47	61	110	235	46	51	105	35
IFWM3337	20	17	16	71	91	22	34	37	43
IFWM3338	57	46	64	245	319	108	46	200	134
IFWM3339	49	59	65	161	235	94	79	141	115
IFWM3340	4	48	41	124	201	8	24	56	44
IFWM3341	8	104	88	275	445	7	63	134	151
IFWM3342	68	142	164	269	589	43	14	95	47
IFWM3343	20	65	63	157	237	60	60	83	106
IFWM3344	78	161	140	274	442	80	112	105	305
IFWM3292	18	123	98	295	613	21	49	72	254
IFWM3345	4	72	120	169	324	9	92	111	158
IFWM3346	52	105	117	505	480	44	86	170	183
IFWM3347	48	96	136	411	350	41	84	125	347

IFWM3348	50	83	64	164	89	58	20	49	42
IFWM3349	7	56	52	123	174	8	65	102	291
IFWM3350	20	57	54	55	161	33	98	66	366
IFWM3351	4	48	53	140	113	10	15	33	30
IFWM3352	60	121	152	287	267	48	90	87	193
IFWM3353	6	54	55	95	110	6	16	31	90
IFWM3354	17	43	32	98	123	23	43	52	360
IFWM3355	26	55	52	79	122	39	60	41	212
IFWM3356	274								
IFWM3357	4	23	39	130	170	8	14	37	8
IFWM3358	18	54	47	223	319	62	48	123	103
IFWM3359	21	41	53	136	147	34	40	51	152
IFWM3360	25	56	49	174	233	35	43	61	236
IFWM3361	30	101	135	388	622	48	66	98	151
IFWM3364	13	93	109	254	269	39	80	118	151
IFWM3366	21	30	27	109	122	40	30	66	433
IFWM3367	57	116	100	453	465	86	67	152	42735
IFWM3368	28	62	59	181	203	62	48	103	47393
IFWM3369	81	88	190	622	344	123	121	220	58
IFWM3370	10	39	39	225	155	24	21	41	42
IFWM3371	18	43	50	125	100	23	50	64	81
IFWM3372	49	94	116	690	432	154	103	272	717
IFWM3374	55	106	121	568	540	139	96	208	349
IFWM3375	19	22	23	45	67	33	35	31	27
IFWM3376	20	34	39	140	113	37	48	62	81
IFWM3377	27	44	51	192	193	58	38	120	132
IFWM3378	75	172	168	496	533	141	150	248	279
IFWM3379	15	13	13	33	72	22	13	23	27
IFWM3380	25	46	32	76	88	14	70	59	157
IFWM3381	45	79	92	121	171	58	53	67	37
IFWM3382	30	24	20	37	75	27	30	32	18
IFWM3383	28	69	60	86	143	33	84	64	194
IFWM3293	29	25	17	62	166	12	37	46	120
IFWM3384	26	29	33	68	77	13	22	17	25
IFWM3385	32	41	41	142	178	19	23	52	42
IFWM3386	26	31	29	87	103	16	26	35	43
IFWM3387	39	90	58	161	169	36	34	69	19

IFWM3388	33	30	19	55	84	26	27	44	105
IFWM3389	17	24	9	32	98	10	33	30	69
IFWM3390	10	11	11	30	75	14	10	29	26
IFWM3391	23	16	25	66	117	29	44	42	63
IFWM3392	23	16	14	21	58	34	19	25	44
IFWM3393	57	49	41	96	166	70	64	78	284
IFWM3394	45	63	63	77	105	123	91	49	304
IFWM3395	19	116	102	181	279	3	63	63	83
IFWM3396	11	5	7	37	79	48	61	68	52
IFWM3397	25	27	28	78	119	42	43	62	103
IFWM3398	26	17	17	44	61	32	22	30	34
IFWM3399	30	25	21	50	88	36	30	37	59
IFWM3400	33	23	22	60	135	32	52	49	68
IFWM3401	62	42	28	78	195	42	67	76	604
IFWM3403	7	25	27	59	62	8	27	23	11
IFWM3405	20	22	19	36	67	17	15	39	38
IFWM3406	78	37	37	119	135	39	37	63	34
IFWM3407	17	32	33	58	128	13	27	60	65
IFWM3408	86	730	5690	1870	703	54	895	176	17
IFWM3409	14	11	9	41	58	18	5	25	28
IFWM3410	29	37	52	82	86	59	52	52	33
IFWM3411	28	23	37	151	101	53	35	87	53
IFWM3413	47	37	33	150	206	58	44	85	121
IFWM3414	58	68	101	174	193	13	33	70	26
IFWM3415	18	19	26	51	69	15	26	44	39
IFWM3416	28	29	45	68	103	37	29	69	55
IFWM3417	29	31	39	70	100	36	30	59	41
IFWM3418	89	191	229	656	1160	206	178	493	208
IFWM3419	86	126	158	399	582	90	81	193	87
IFWM3420	36	113	118	299	475	61	37	124	35

Los anticuerpos seleccionados del panel de 126 se caracterizaron en un ensayo del ISRE para su capacidad de inhibir un espectro de subtipos de IFN- α e IFN- ω , y se evaluaron su solubilidad y características biofísicas. Los valores de IC₅₀ del ensayo del ISRE se muestran en la **Tabla 11** y la **Tabla 12** para los anticuerpos

seleccionados. Los valores de IC_{50} fueron del orden pM de dos cifras o menor para varios anticuerpos para 11 subtipos recombinantes de IFN- α y para IFN- ω . Esto representa una mejora de más de cien veces con respecto al mAb parental, IFWM371, cuya IC_{50} contra sus antígenos varía del orden nM de una sola a dos

5 cifras. Como el anticuerpo parental, los anticuerpos con maduración de la afinidad no neutralizaron IFN- α D o IFN- β . El anticuerpo mAb IFWM3423 con maduración de la afinidad más potente, tuvo una IC_{50} casi del orden picomolar de una sola cifra para todos los subtipos de interferón a los que se unió.

10 **Tabla 11.**

mAb	IC_{50} (pM)						
	α A	α B2	α C	α D	α F	α G	α H2
IFWM371	8400	19300	53900	NN	16000	12900	9600
IFWM3304	29	39	117	NN	62	47	42
IFWM3307	73	247	583	NN	170	95	88
IFWM3308	94	230	996	NT	155	167	32
IFWM3310	50	43	196	NN	111	73	45
IFWM3314	29	33	157	NN	58	57	40
IFWM3320	45	18	392	NT	54	82	23
IFWM3321	29	87	266	NN	54	34	28
IFWM3322	31	121	306	NN	117	83	46
IFWM3328	216	520	1416	NN	631	486	440
IFWM3331	18	80	98	NN	48	27	33
IFWM3332	104	327	479	NN	228	99	92
IFWM3385	63	158	272	NN	66	77	29
IFWM3399	43	62	189	NN	29	29	13
IFWM3400	35	86	138	NN	43	35	15
IFWM3405	40	99	68	NN	35	26	16
IFWM3410	NT	211	168	NN	77	55	33

IFWM3416	81	250	112	NN	64	49	35
IFWM3421	13	16	20	NN	11	18	8
IFWM3423	12	11	12	NN	8	9	4
NN: no neutralizante; NT: No probado							

Tabla 12.

mAb	IC ₅₀ (pM)						
	α I	α J1	α K	α WA	α 4a	IFN-B	IFN- ω
IFWM371		35700	7300	74200	32800	NN	43900
IFWM3304	157	126	57	237	112	NN	31
IFWM3307	752	328	95	600	501	NN	100
IFWM3308	478	363	59	894	295	NN	40
IFWM3310	258	166	96	473	169	NN	81
IFWM3314	163	86	65	188	137	NN	32
IFWM3320	355	213	34	633	166	NN	53
IFWM3321	301	114	46	267	295	NN	38
IFWM3322	460	169	71	382	352	NN	59
IFWM3328	2002	1657	321	3078	1169	NN	456
IFWM3331	198	94	28	109	117	NN	50
IFWM3332	893	487	76	947	519	NN	228
IFWM3385	225	251	65	839	414	NN	68
IFWM3399	18	106	32	189	111	NN	27
IFWM3400	137	154	35	376	220	NN	29
IFWM3405	72	26	22	216	86	NN	19
IFWM3410	183	217	41	538	192	NN	89
IFWM3416	158	61	43	779	201	NN	40
IFWM3421	17	14	18	14	15	NN	8
IFWM3423	4	6	9	10	8	NN	6

NN: no neutralizante

5 Ejemplo 9. Modificación de anticuerpos para minimizar el riesgo de modificación postraducciona

En base a la actividad neutralizante, la solubilidad y propiedades biofísicas, cuatro mAb derivados de la maduración de la afinidad de IFWM371, IFWM3331 (IFWB3066), IFWM3399 (IFWB3134), IFWM3421 (IFWB3156) e IFWM3423 (IFWB3158) se analizaron adicionalmente. Las cadenas pesadas de estos mAb
5 consisten en cualquiera de IFWH59 (sec. con núm. de ident.: 28) o IFWH629 (sec. con núm. de ident.: 31) y las cadenas ligeras de estos consisten en cualquiera de IFWL984 (sec. con núm. de ident.: 71) o IFWL1048 (sec. con núm. de ident.: 53) o IFWL1073 (sec. con núm. de ident.: 61).

Ambas cadenas VH contienen varios motivos de modificación postraduccional
10 (PTM) potenciales en sus CDR, que incluyen un motivo de la secuencia de hidrólisis catalizada por ácido (D52-P53), un motivo de isomerización (D55-S56) en HCDR2 y sitios de oxidación potencial en HCDR1 (W33) y CDR-H3(W104).

La VL de IFWL984 (sec. con núm. de ident.: 71) e IFWL1084 (sec. con núm. de ident.: 53) contienen un motivo de isomerización (D30-G31) en LCDR1 mientras que la
15 VL de IFW1073 (sec. con núm. de ident.: 61) contiene sitios de oxidación potencial en LCDR3 (W92 y W94) y un sitio de desamidación potencial en LCDR1 (N31-S32).

Para reducir los riesgos de PTM en las CDR de la cadena pesada, se realizó retromutación de D52 en HCDR2 a residuo tirosina de la línea germinal (D52Y). P53 mutó a Alanina. W104 en HCDR3 (VH_W104) se reemplazó con alanina, tirosina,
20 serina o ácido aspártico. Las cadenas pesadas mutadas se coexpresaron con tres cadenas ligeras diferentes y se probaron en el ensayo del ISRE. A partir de estos experimentos, los anticuerpos con cadena pesada IFWH615 (sec. con núm. de ident.: 157) e IFWL1084 (sec. con núm. de ident.: 158) se caracterizaron adicionalmente.

Para reducir los riesgos de PTM en VL IFWL984 (sec. con núm. de ident.: 71) e IFWL1084 (sec. con núm. de ident.: 53), una serie de mutaciones para eliminar los motivos potenciales de PTM se diseñaron con la guía de la información estructural obtenida de la estructura del complejo IFWM371/IFN- ω descrito en el ejemplo 6.

5 Adicionalmente, para mejorar la solubilidad de IFWM3421 (IFWB3156) e IFWM3423 (IFWB3158) que tienen la cadena ligera IFWL984 común, se hicieron una serie de mutaciones en varios residuos hidrofóbicos en sus CDR para reducir la hidrofobicidad de superficie en general de las cadenas ligeras del anticuerpo. Las variantes IFWL984 se expresaron en células HEK293E con la cadena pesada parental IFWH591 y los

10 anticuerpos que se expresan en los sobrenadantes celulares se seleccionaron en el ensayo del ISRE de genes indicadores para la inhibición de IFN- ω e IFN de leucocito mediante el uso de los métodos descritos en el Ejemplo 11. Los anticuerpos resultantes IFWB3196 (D30E F32Y), IFWB3201 (D30S, G31S), e IFWB3202 (D30S, G31S, F32Y) conservan una buena actividad neutralizante. La **Tabla 13** muestra las

15 secuencias VL de los anticuerpos generados que tienen la región variable de cadena pesada parental IFWH591 (sec. con núm. de ident.: 28) y una variante de cadena ligera IFWL984. La IFWM3421 parental tiene la VH IFWH591 y la IFWM3423 parental tiene la VH IFWH629. La **Tabla 14** muestra los valores de IC₅₀ para la neutralización de IFN- ω e IFN de leucocito de anticuerpos generados escogidos.

20

Tabla 13.

ID del ADN Anticuerpo	ID del Anticuerpo AA	ID del péptido VL	Sustitución VL	VL Sec. con núm. de ident.:
IFWM3421	IFWB3156	IFWL984	control del original	71
IFWM3423	IFWB3158	IFWL984	control del original	71
IFWM3454	IFWB3189	IFWL1112	IFWL984 D30S	123
IFWM3514	IFWB3248	IFWL1113	IFWL984 D30E	124
IFWM3455	IFWB3190	IFWL1114	IFWL984 F32Y	125
IFWM3456	IFWB3191	IFWL1115	IFWL984 F50A	126
IFWM3458	IFWB3193	IFWL1117	IFWL984 F50I	127
IFWM3459	IFWB3194	IFWL1118	IFWL984 F50L	128
IFWM3460	IFWB3195	IFWL1119	IFWL984 F50V	129
IFWM3461	IFWB3196 ⁱ	IFWL1120	IFWL984 D30E,F32Y	130
IFWM3462	IFWB3197	IFWL1121	IFWL984 D30E,F50A	131
IFWM3463	IFWB3198	IFWL1122	IFWL984 D30E,F50I	132
IFWM3464	IFWB3199	IFWL1123	IFWL984 D30E,F50L	133
IFWM3465	IFWB3200	IFWL1124	IFWL984 D30E,F50V	134
IFWM3466	IFWB3201	IFWL1125	IFWL984 D30S,G31S	135
IFWM3467	IFWB3202	IFWL1126	IFWL984 D30S,G31S,F32Y	136
IFWM3470	IFWB3205	IFWL1129	IFWL984 D30G,G31D,F50Y	137
		IFWL1173	IFWL984 D30E,F32Y,F50Y	138
IFWM3526	IFWB3251	IFWL1174	IFWL984 D30E,F50Y	139
		IFWL1175	IFWL984 D30S,G31S,F50Y	140

Tabla 14.

ID del ADN Anticuerpo	ID del Anticuerpo AA	IC ₅₀ (pM)	
		IFN- ω humano	IFN de leucocito
IFWM3421	IFWB3156	7,4	0,7
IFWM3423	IFWB3158	10,7	1,1
IFWM3454	IFWB3189	11,2	1,3
IFWM3514	IFWB3248	10,4	1,4
IFWM3455	IFWB3190	24	no apto
IFWM3456	IFWB3191	100,3	22,6
IFWM3458	IFWB3193	37	2,1

IFWM3459	IFWB3194	1518,9	4,4
IFWM3460	IFWB3195	43,5	no apto
IFWM3461	IFWB3196 ⁱ	21	1
IFWM3462	IFWB3197	41,6	12,6
IFWM3463	IFWB3198	41,4	6,6
IFWM3464	IFWB3199	46,8	5,6
IFWM3465	IFWB3200	33,7	1,7
IFWM3466	IFWB3201	10,3	0,9
IFWM3467	IFWB3202	51,8	0,8
IFWM3470	IFWB3205	52,3	7,4

De manera similar, se construyeron 26 variantes de IFWL1048 para reducir los riesgos de PTM. Las cadenas ligeras generadas se coexpresaron con una cadena pesada IFWH591 en células HEK293E y el sobrenadante que contenía el anticuerpo se seleccionó con ensayo del ISRE. La **Tabla 15** muestra las secuencias VH y VL de los anticuerpos generados, y la **Tabla 16** muestra los valores de IC₅₀ de los anticuerpos para IFN- ω e IFN de leucocito. Los anticuerpos resultantes con cadenas de la variante IFWL1048, donde el motivo DG (D30-G31) en LCDR1 se eliminó, que incluye IFWB3210 (D30S), IFWB3211 (D30E) e IFWB3223 (D30S, G31S), mostraron actividad de neutralización similar que los mAb parentales IFWB3056 (VL: IFWL1048, VH: IFWH591) e IFWB3134 (VL: IFWL1048; VH: IFWH629). Sin embargo, los anticuerpos resultantes con cadenas de la variante IFWL1048 con el motivo DG eliminado y con sustituciones para reducir hidrofobicidad, que incluyen IFWB3219 (D30E, A32Y), IFWB3227 (D30S, G31S, F94L) e IFWB3230 (D30S, G31S, A32Y, F94L) demostraron una actividad menor que los mAb parentales.

Tabla 15.

ID del ADN Anticuerpo	ID del Anticuerpo AA	ID del péptido VL	Mutación	VL Sec. con núm. de ident.:
IFWM3321	IFWB3056	IFWL1048	control del original	53
IFWM3399	IFWB3134	IFWL1048	control del original	53
IFWM3475	IFWB3210	IFWL1135	IFWL1048 D30S	141
IFWM3476	IFWB3211	IFWL1136	IFWL1048 D30E	73
IFWM3477	IFWB3212	IFWL1137	IFWL1048 A32Y	142
IFWM3483	IFWB3218	IFWL1143	IFWL1048 F94L	143
IFWM3484	IFWB3219	IFWL1144	IFWL1048 D30E,A32Y	74
IFWM3488	IFWB3223	IFWL1148	IFWL1048 D30S,G31S	75
IFWM3489	IFWB3224	IFWL1149	IFWL1048 D30S,G31S,A32Y	144
IFWM3492	IFWB3227	IFWL1152	IFWL1048 D30S,G31S,F94L	145
IFWM3495	IFWB3230	IFWL1155	IFWL1048 D30S,G31S,A32Y,F94L	146
		IFWL1161	IFWL1048 D30G,G31D,A32F,F50A,F94L	147

Tabla 16.

ID del ADN Anticuerpo	ID del Anticuerpo AA	IC ₅₀ (pM)	
		IFN- ω humano	IFN de leucocito
IFWM3321	IFWB3056	25,8	1,2
IFWM3399	IFWB3134	28,7	1,3
IFWM3475	IFWB3210	27,3	1,5
IFWM3476	IFWB3211	17,2	3,3
IFWM3477	IFWB3212	31	4,1
IFWM3483	IFWB3218	51,4	4,8
IFWM3484	IFWB3219	38,7	2,3
IFWM3488	IFWB3223	29,4	1
IFWM3489	IFWB3224	80,3	3,4
IFWM3492	IFWB3227	56,1	0,5
IFWM3495	IFWB3230	57,5	3,9

5 Los motivos de PTM potencial sobre la VL IFWL1073 de IFWB3066 incluyó sitios de oxidación potencial en en LCDR3 (W92 y W94). La LCDR3 de IFWL1073

(QQGWDWPLT; Sec. con núm. de ident.: 98) se reemplazó con una secuencia consenso LCDR3 identificada, presente en la LCDR3 de muchos de los anticuerpos con maduración de afinidad (QQSYDFPLT; Sec. con núm. de ident.: 154).

Adicionalmente, se diseñaron varios de los mutantes para contemplar un sitio de

desamidación potencial (N31-S32) en LCDR1. 14 de las variantes generadas de IFWL1073 se aparearon con IFWH591 y se expresaron en la transfección transitoria de HEK293E en 48 pocillos. Los sobrenadantes celulares se probaron directamente en el ensayo del ISRE para sus actividades de neutralización contra IFN- ω humano recombinante e IFN expresados en leucocitos inducidos por virus. Los mAb con mutaciones W93Y y/o W95F mostraron algunas mejoras en la actividad de neutralización. Los mutantes para eliminar el motivo NS por medio de sustitución o por acortamiento de la CDR-L1 mostraron reducción o pérdida de la actividad de neutralización. La **Tabla 17** muestra las secuencias VH y VL de los anticuerpos generados y la **Tabla 18** muestra los valores de IC₅₀ para IFN- ω e IFN de leucocito.

Tabla 17.

ID del ADN Anticuerpo	ID del Anticuerpo AA	ID del péptido VL	VL Mutación	VL Sec. con núm. de ident.:
IFWM3331	IFWB3066	IFWL1073	control del original	61
IFWM3501	IFWB3236	IFWL1162	IFWL1073 W93Y	148
IFWM3502	IFWB3237	IFWL1163	IFWL1073 W95F	149
IFWM3503	IFWB3238	IFWL1164	IFWL1073 W93Y,W95F	150
IFWM3527	IFWB3252	IFWL1176	IFWL1073 N31Q,W93Y,W95F	151
IFWM3528	IFWB3253	IFWL1177	IFWL1073 N31T,W93Y,W95F	152
IFWM3529	IFWB3254	IFWL1178	IFWL1073 S32T,W93Y,W95F	153

Tabla 18.

ID del ADN Anticuerpo	ID del Anticuerpo AA	IC 50 (pM)	
		IFN- ω humano	IFN de leucocito
IFWM3331	IFWB3066	40,7	1,5
IFWM3501	IFWB3236	15,1	2,6
IFWM3502	IFWB3237	28	2,5
IFWM3503	IFWB3238	12	2,1

Las variantes VL seleccionadas derivadas del diseño de esfuerzos para

5 minimizar el riesgo de PTM se aparearon con IFWH591 o con IFWH629 y se extrapolaron para la expresión y purificación. La **Tabla 19** muestra el apareamiento VL/VH de los anticuerpos. La **Tabla 20** muestra los valores de IC₅₀ de los anticuerpos seleccionados resultantes para varios subtipos de IFN- α recombinante e IFN- ω .

10 **Tabla 19.**

Anticuerpo	VL			HC	
	ID Péptido	VL Sec. con núm. de ident.:	Descripción	ID Péptido	VH Sec. con núm. de ident.:
Mutantes IFWL1073	IFWL1073	61	original	IFWH591	28
	IFWL1164	150	IFWL1073 W93Y,W95F	IFWH591	28
	IFWL1176	151	IFWL1073 N31Q,W93Y,W95F	IFWH591	28
	IFWL1177	152	IFWL1073 N31T,W93Y,W95F	IFWH591	28
Mutantes IFWL984	IFWL984	71	original	IFWH591	28
	IFWL984	71	original	IFWH629	31
	IFWL984	71	original	IFWH629	31

	IFWL1125	135	IFWL984 D30S,G31S	IFWH591	28
	IFWL1126	136	IFWL984 D30S,G31S,F32Y	IFWH591	28
	IFWL1174	139	IFWL984 D30E,F50Y	IFWH591	28
	IFWL1048	53	original	IFWH591	28
	IFWL1048	53		IFWH629	31
	IFWL1136	73	IFWL1048 D30E	IFWH591	28
	IFWL1148	75	IFWL1048 D30S,G31S	IFWH591	28

Tabla 20.

ID ADN Proteína	ID Proteína AA	(IC ₅₀ (pM))						
		αA	αB2	αC	αF	αG	α4a	ω
IFWM3331*	IFWB3066	26	77	48	157	33		52
		31	65	88	30	23		30
IFWM3421*	IFWB3156	16	19	29	16	18	22	8
		17	19	28	15	14	19	9
IFWM3423*	IFWB3158	20	17	24	21	20	23	16
		12	13	17	11	10	9	7
IFWM3466	IFWB3201	17	21	31	18	16	23	12
IFWM3503	IFWB3238	15	19	20	20	15	32	13
IFWM3399	IFWB3134	24	38	64	29	24	117	25
IFWM3476	IFWB3211	35	54	115	50	39	130	23
IFWM3488	IFWB3223	19	31	72	25	21	84	22

* resultados de dos experimentos independientes

5 Ejemplo 10. Amplia capacidad neutralizante de anticuerpos anti-IFN-α/ω

Varios de los anticuerpos generados neutralizaron IFN-ω y múltiples subtipos de IFN-α con una IC₅₀ de 100 pM o menos, que se midió mediante el uso del ensayo del ISRE descrito anteriormente. Las secuencias de región variable de

estos anticuerpos se muestran en la **Tabla 21**. La **Tabla 22** muestra la secuencias LCDR1, la **Tabla 23**, las LCDR2; la **Tabla 24**, las LCDR3; la **Tabla 25**, las HCDR1; la **Tabla 26**, las HCDR2 y la **Tabla 27** las HCDR3 de los anticuerpos. La **Figura 10** muestra los valores de IC₅₀ para cada IFN tipo I en el ensayo del ISRE.

5

Tabla 21.

ADNc del mAB	proteína del mAB	VH	VH Sec. con número de ident.:	VL	VL Sec. con número de ident.:
IFWM3308	IFWB3043	IFWH591	28	IFWL1004	40
IFWM3307	IFWB3042	IFWH591	28	IFWL1001	39
IFWM3410	IFWB3145	IFWH629	31	IFWL1074	62
IFWM3322	IFWB3057	IFWH591	28	IFWL1051	54
IFWM3385	IFWB3120	IFWH629	31	IFWL1001	39
IFWM3416	IFWB3151	IFWH629	31	IFWL1091	68
IFWM3310	IFWB3045	IFWH591	28	IFWL1007	42
IFWM3400	IFWB3135	IFWH629	31	IFWL1051	54
IFWM3321	IFWB3056	IFWH591	28	IFWL1048	53
IFWM3522	IFWB3211	IFWH591	28	IFWL1136	73
IFWM3524	IFWB3223	IFWH591	28	IFWL1148	75
IFWM3320	IFWB3055	IFWH591	28	IFWL1047	52
IFWM3304	IFWB3039	IFWH591	28	IFWL997	35
IFWM3520	IFWB3201	IFWH591	28	IFWL1125	135
IFWM3399	IFWB3134	IFWH629	31	IFWL1048	53
IFWM3314	IFWB3049	IFWH591	28	IFWL1014	46
IFWM3331	IFWB3066	IFWH591	28	IFWL1073	61
IFWM3405	IFWB3140	IFWH629	31	IFWL1063	57
IFWM3442	IFWB3177	IFWH615	157	IFWL984	71
IFWM3525	IFWB3238	IFWH591	28	IFWL1164	150
IFWM3423	IFWB3158	IFWH629	31	IFWL984	71
IFWM3444	IFWB3179	IFWH617	158	IFWL984	71
IFWM3421	IFWB3156	IFWH591	28	IFWL984	71

Tabla 22.

mAb	LCDR1							
	Secuencia							Sec. con núm. de ident.:
IFWM3308	Q	S	I	A	E	F		77
IFWM3307	Q	S	I	G	D	F		85
IFWM3410	Q	S	I	A	N	T	N	79
IFWM3322	Q	S	I	A	D	F		76
IFWM3385	Q	S	I	G	D	F		85
IFWM3416	Q	S	I	R	N	T	N	89
IFWM3310	Q	S	I	G	K	S		86
IFWM3400	Q	S	I	A	D	F		76
IFWM3321	Q	S	I	D	G	A		80
IFWM3522	Q	S	I	E	G	A		84
IFWM3524	Q	S	I	S	S	A		90
IFWM3320	Q	S	I	N	G	V		88
IFWM3304	Q	S	I	G	S	A		87
IFWM3520	Q	S	I	S	S	F		91
IFWM3399	Q	S	I	D	G	A		80
IFWM3314	Q	S	I	D	R	A		83
IFWM3331	Q	S	I	D	N	S	Y	82
IFWM3405	Q	S	I	A	N	N	N	78
IFWM3442	Q	S	I	D	G	F		81
IFWM3525	Q	S	I	D	N	S	Y	82
IFWM3423	Q	S	I	D	G	F		81
IFWM3444	Q	S	I	D	G	F		81
IFWM3421	Q	S	I	D	G	F		81

Tabla 23.

5

mAb	LCDR2			
	Secuencia			Sec. con núm. de ident.:
IFWM3308	F	A	S	93

IFWM3307	F	A	S	93
IFWM3410	W	A	S	95
IFWM3322	F	A	S	93
IFWM3385	F	A	S	93
IFWM3416	W	A	S	95
IFWM3310	F	A	S	93
IFWM3400	F	A	S	93
IFWM3321	F	A	S	93
IFWM3522	F	A	S	93
IFWM3524	F	A	S	93
IFWM3320	F	A	S	93
IFWM3304	F	A	S	93
IFWM3520	F	A	S	93
IFWM3399	F	A	S	93
IFWM3314	F	A	S	93
IFWM3331	G	A	S	94
IFWM3405	W	A	S	95
IFWM3442	F	A	S	93
IFWM3525	G	A	S	94
IFWM3423	F	A	S	93
IFWM3444	F	A	S	93
IFWM3421	F	A	S	93

Tabla 24.

mAb	LCDR3									
	Secuencia									Sec. con núm. de ident.:
IFWM3308	Q	Q	S	I	D	F	P	L	T	104
IFWM3307	Q	Q	A	L	D	F	P	L	T	96
IFWM3410	Q	Q	W	Y	D	N	P	L	T	107
IFWM3322	Q	Q	S	H	S	F	P	L	T	103
IFWM3385	Q	Q	A	L	D	F	P	L	T	96
IFWM3416	Q	Q	G	Y	D	T	P	F	T	100
IFWM3310	Q	Q	S	Y	D	F	P	L	T	105
IFWM3400	Q	Q	S	H	S	F	P	L	T	103

IFWM3321	Q	Q	A	Y	D	F	P	L	T	97
IFWM3522	Q	Q	A	Y	D	F	P	L	T	97
IFWM3524	Q	Q	A	Y	D	F	P	L	T	97
IFWM3320	Q	Q	S	H	D	F	P	L	T	102
IFWM3304	Q	Q	S	Y	D	F	P	L	T	105
IFWM3520	Q	Q	S	Y	D	L	P	I	T	106
IFWM3399	Q	Q	A	Y	D	F	P	L	T	97
IFWM3314	Q	Q	S	F	D	F	P	L	T	101
IFWM3331	Q	Q	G	W	D	W	P	L	T	98
IFWM3405	Q	Q	G	Y	D	T	P	F	T	100
IFWM3442	Q	Q	S	Y	D	L	P	I	T	106
IFWM3525	Q	Q	G	Y	D	F	P	L	T	99
IFWM3423	Q	Q	S	Y	D	L	P	I	T	106
IFWM3444	Q	Q	S	Y	D	L	P	I	T	106
IFWM3421	Q	Q	S	Y	D	L	P	I	T	106

Tabla 25.

mAb	HCDR1								
	Secuencia								Sec. con núm. de ident.:
IFWM3308	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3307	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3410	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3322	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3385	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3416	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3310	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3400	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3321	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3522	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3524	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3320	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3304	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3520	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3399	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109

IFWM3314	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3331	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3405	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3442	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3525	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3423	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3444	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109
IFWM3421	G	Y	S	F	T	S	Y	W	109

Tabla 26.

mAb	HCDR2								Sec. con núm. de ident.:
	Secuencia								
IFWM3308	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3307	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3410	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3322	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3385	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3416	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3310	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3400	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3321	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3522	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3524	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3320	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3304	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3520	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3399	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3314	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3331	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3405	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3442	I	A	P	S	D	S	D	T	111
IFWM3525	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3423	I	D	P	S	D	S	D	T	113
IFWM3444	I	D	A	S	D	S	D	T	112

IFWM3421	I	D	P	S	D	S	D	T	113
----------	---	---	---	---	---	---	---	---	-----

Tabla 27.

mAb	HCDR3														Sec. con núm. de ident.:
	Secuencia														
IFWM3308	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3307	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3410	A	R	H	P	G	L	A	W	A	P	D	F	D	Y	115
IFWM3322	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3385	A	R	H	P	G	L	A	W	A	P	D	F	D	Y	115
IFWM3416	A	R	H	P	G	L	A	W	A	P	D	F	D	Y	115
IFWM3310	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3400	A	R	H	P	G	L	A	W	A	P	D	F	D	Y	115
IFWM3321	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3522	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3524	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3320	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3304	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3520	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3399	A	R	H	P	G	L	A	W	A	P	D	F	D	Y	115
IFWM3314	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3331	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3405	A	R	H	P	G	L	A	W	A	P	D	F	D	Y	115
IFWM3442	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3525	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3423	A	R	H	P	G	L	A	W	A	P	D	F	D	Y	115
IFWM3444	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116
IFWM3421	A	R	H	P	G	L	N	W	A	P	D	F	D	Y	116

5 Ejemplo 11. Anticuerpos anti-IFN- α/ω neutralizan el IFN de leucocito

La capacidad de los anticuerpos para neutralizar IFN de leucocito se evaluó mediante la capacidad de los anticuerpos para inhibir la liberación de IP-10 inducida por IFN.

Los anticuerpos seleccionados de la campaña de maduración de afinidad o después de la reducción al mínimo del riesgo de PTM se caracterizaron adicionalmente para su capacidad de inhibir el IFN tipo I endógeno. Todos los anticuerpos caracterizados fueron de tipo IgG1/k. En los análisis se usaron los anticuerpos IFWM3522, IFWM3525, IFWM3399 e IFWM3423.

Ensayo De Liberación de IP-10:

240 µl de sangre entera (Biological Specialty Corporation) se añadió en pocillos individuales en placas de fondo en U de 96 pocillos que contienen 30 µl de anticuerpo (anti IFN- α/ω o control de isotipo), con o sin IFN o medio acondicionado que contiene IFN diluido en medios de cultivo celular (RPMI1640 con 10 % HI de FBS y 1 % de strep Penn). Para la estimulación, se usó IFN de leucocito humano (Sigma-Aldrich) a 250 U/ml (volumen final) y medio acondicionado tratado con el complejo inmune SLE a 10 µl por pocillo. Las mezclas de IFN y anticuerpo se preincubaron a temperatura ambiente durante 20-30 min antes de la adición de sangre entera. Las placas se incubaron durante la noche por 20-22 horas a 37 °C. Al día siguiente, las placas se centrifugaron a 400xg durante 5 minutos a temperatura ambiente y el plasma se extrajo y se congeló a -20 °C. Las muestras duplicadas de cada tratamiento se analizaron mediante el uso de un estuche de ELISA CXCL10/IP-10 de Qiagen. Con el descongelamiento, el plasma recolectado se diluyó 2,5 veces con el uso del tampón de

dilución de la muestra que se usó en el ensayo. El protocolo del fabricante se siguió con una ligera modificación en la dilución de los patrones de la manera siguiente. Dos diluciones en serie del patrón del antígeno se elaboraron, que empiezan a una concentración de 4000 pg/ml y que terminan en 31,25 pg/ml. Las placas se leyeron a una absorbancia a 450 nm dentro de 30 minutos de la detención de la reacción. El análisis se realizó mediante el uso de Softmax Pro.

Resultados

Los anticuerpos seleccionados se caracterizaron para su capacidad para neutralizar las preparaciones de IFN-I endógenas en tipos de células relevantes. La estimulación de IFN-I de sangre entera induce liberación de IP-10 (CXCL10) in vitro e in vivo (Arico, E. y colaboradores. Concomitant detection of IFNalpha signature and activated monocyte/dendritic cell precursors in the peripheral blood of IFNalpha-treated subjects at early times after repeated local cytokine treatments. *J Transl Med* **9**, 67, doi:10.1186/1479-5876-9-67 (2011).; Mohty, A. M. y colaboradores. Induction of IP-10/CXCL10 secretion as an immunomodulatory effect of low-dose adjuvant interferón-alpha during treatment of melanoma. *Immunobiology* **215**, 113-123, doi:10.1016/j.imbio.2009.03.008 (2010)). La IP-10 se eleva en SLE, y se ha demostrado en varios estudios que se correlaciona con la actividad de la enfermedad y las manifestaciones clínicas de la enfermedad (Bauer, J. W. y colaboradores. Interferón-regulated chemokines as biomarkers of systemic lupus erythematosus disease activity: a validation study. *Arthritis y rheumatism* **60**, 3098-3107, doi:10.1002/art.24803 (2009).; Kong, K. O. y colaboradores. Enhanced expression of interferón-inducible protein-10 correlates with disease activity y

clinical manifestations in systemic lupus erythematosus. *Clinical y experimental immunology* **156**, 134-140, doi:10.1111/j.1365-2249.2009.03880.x (2009).; Rose, T. y colaboradores. IFN α and its response proteins, IP-10 and SIGLEC-1, are biomarkers of disease activity in systemic lupus erythematosus. *Annals of the rheumatic diseases* **72**, 1639-1645, doi:10.1136/annrheumdis-2012-201586 (2013).

La capacidad de los mAb anti IFN- α/ω para inhibir liberación de IP-10 en la sangre entera inducida por IFN de leucocito se examinó *in vitro*. Rápidamente IFN-I se produce en respuesta a agentes infecciosos, tales como virus, para ayudar a controlar la infección. El IFN de leucocito humano es una mezcla natural de IFN producidos por leucocitos después de la infección viral y se compone mayormente de subtipos IFN- α e IFN- ω . El IFN- ω se cree que constituye aproximadamente el 15 % del total de la actividad de IFN-I en estas preparaciones. Lo que es más importante, se cree que las infecciones potencialmente contribuyen tanto a la inducción como la exacerbación de SLE. En este estudio, se añadió IFN de leucocito humano a muestras de sangre entera de 2 donantes humanos sanos en la presencia de inhibidores o controles y el plasma se evaluó para la liberación de IP-10, 24 h posterior a la exposición al IFN. mAb Anti IFN- α/ω : IFWM3522 e IFWM3525 (**Figura 11A**), e IFWM3399 (**Figura 11B**) todos neutralizaron dependiente de la dosis, la liberación de IP-10 inducida por IFN de leucocito en ambos donantes probados.

Ejemplo 12. Los anticuerpos anti-IFN- α/ω neutralizan complejos inmunes SLE

Un sello distintivo de SLE es la presencia de autoanticuerpos tales como anti-ADN bicatenario (anti-ADNbc) que, típicamente, precede el desarrollo de la

enfermedad definida clínicamente. Los autoanticuerpos unidos a ligandos de ácidos nucleicos se piensa que son inductores endógenos de IFN tipo I en pacientes con SLE. La preponderancia de los autoanticuerpos junto con aclaramiento deteriorado de autoantígenos conduce a un ciclo de realimentación de la producción de IFN, donde la internalización dependiente del receptor Fc de complejos inmunes en células dendríticas plasmacitoides (pDC) conduce al incremento de las cantidades de IFN circulante y el establecimiento de la señal génica de IFN.

Nosotros probamos adicionalmente la capacidad de anticuerpos anti-IFN- α/ω para neutralizar más preparaciones de IFN endógeno relevantes para la enfermedad.

Los complejo inmunes se prepararon esencialmente como se describe en el Ejemplo 1. Estos complejos inmunes derivados de pacientes con SLE se añadieron después a PBMC de donante sano y medio acondicionado que contiene IFN recogido de los cultivos de células (IC92 e IC163). A continuación, el medio acondicionado se añadió a sangre entera de donantes sanos de 4 donantes saludables en la presencia de inhibidores o el control para determinar el impacto de la neutralización de IFN- α/ω en la liberación de IP-10 inducida por IFN. IFWM3522, IFWM3525, e IFWM3399 todos neutralizaron dependiente de la dosis la liberación de IP-10 mediante el uso de ambas preparaciones de IFN inducido por complejo inmune de SLE en todos los donantes de sangre entera probados. La **Figura 12a** muestra la neutralización de la liberación de IP-10, estimulada por IFN inducido por complejo inmune de SLE en sangre entera de humanos mediante anticuerpos IFWM3522 e IFWM2525 de un donante (donante 92 de SLE). La **Figura 12b** muestra los resultados para el anticuerpo IFWM3399 y el control de isotipo.

Ejemplo 13. Anticuerpos Anti-IFN- α/ω neutralizan plasma de SLE

Los mAb anti-IFN- α/ω demostraron potente neutralización dependiente de la dosis de preparaciones de IFN-I endógeno producidas a partir de células primarias humanas después de la exposición tanto a ligandos estériles (complejo inmune;

5 **Ejemplo 12)** como microbianos (IFN de leucocito; **Ejemplo 11**). La potencia de los mAb IFN- α/ω para neutralizar IFN de tipo I fisiológico se evaluó, además, para la capacidad de los anticuerpos para neutralizar la actividad de IFN-I del suero y de plasma de pacientes con SLE. Este enfoque evalúa así la capacidad de los anticuerpos para neutralizar el ambiente real circulante de IFN-I del paciente que
10 puede contener un espectro de IFN, que puede ser difícil de recapitular *in vitro*.

Ensayo del ISRE por el uso de suero SLE:

Las células HEK Blue (α/β) (InvivoGen) se sembraron en placas a 50,000 células por pocillo en un volumen total de 200 μ l de DMEM + 10 % de FBS y se incubaron
15 durante la noche a 37 °C. Al día siguiente, el plasma (3 donantes) o suero (donantes 13) combinados preseleccionados en base a conseguir una OD mayor que o igual a 1,0, después de una incubación de 30 minutos en este ensayo se descongeló y se mezcló en una relación 1:1 (v/v) con DMEM + 10 % de FBS. Se eliminaron los sobrenadantes de las células HEK Blue previamente sembradas en placas y se reemplazaron con
20 100 μ l de la mezcla de medio/ plasma o suero SLE y se dejó incubar durante la noche a 37 °C. Al día siguiente, 40 μ l de medio acondicionado se eliminó y se añadió a 160 μ l de sustrato Quanti-Blue (InvivoGen), en una nueva placa y se dejó incubar durante

30 minutos. Las placas se leyeron con un espectrofotómetro a 650 nanómetros de longitud de onda y se calcularon los valores de IC_{50} con el uso de GraphPad Prism.

Resultados

5 El suero SLE de una cohorte de pacientes chinos (cohorte 1SLE) y plasma SLE de una cohorte principalmente de afroamericanos (cohorte 2 SLE) Se preseleccionaron para la actividad de IFN-I con el uso del ensayo del ISRE. Las muestras de suero o de plasma de donantes de SLE que tienen una OD de $\sim 1,0$ o mayor se determinaron para tener una suficiente ventana de actividad de IFN-I, tal

10 que la inhibición con anticuerpos antagonistas podría medirse fácilmente. Estas muestras de donantes se combinaron después para crear un suero o plasma de reserva para generar un volumen suficiente de muestra para permitir repetir los experimentos y titulaciones de anticuerpos. Se usaron muestras de pacientes con SLE de diversas cohortes étnicas/raciales para capturar mejor la diversidad

15 potencial en respuestas cualitativas y cuantitativas de IFN-I en pacientes con SLE. Los donantes afroamericanos y asiáticos se cree que tienen una mayor actividad de IFN-I que los donantes caucásicos. Los mAb anti-IFN- α/ω que se probaron neutralizaron dependiente de la dosis la actividad de IFN-I en muestras combinadas de suero y plasma de pacientes con SLE. Los valores de IC_{50} de dos

20 experimentos independientes se muestran mediante el uso de muestras combinadas de ambas cohortes SLE en la **Tabla 28**.

Tabla 28.

mAb	IC ₅₀ Media (ng/ml) +/- SD	
	SLE cohorte 1 (suero)	SLE cohorte 2 (plasma)
IFWM3525	5,166 +/- 0,1612	4,255 +/- 0,8422
IFWM3522	10,47 +/- 0,3818	6,059 +/- 0,3613
IFWM3399	8,352 +/- 1,102	4,340 +/- 0,1223

Ejemplo 14. Anticuerpos anti-IFN- α/ω neutralizan la señal génica de IFN

El IFN tipo I induce un espectro de genes que se sobreexpresan, además, en algunos de los pacientes con SLE en comparación con controles sanos. Las muestras de plasma de los pacientes con SLE que exhiben esta señal génica de IFN son capaces de inducir la sobreexpresión de un conjunto similar de genes cuando se añade a las PBMC de donantes sanos o líneas celulares, y esta actividad se neutraliza predominantemente por anticuerpos contra IFN- α (Hua y colaboradores., *Arthritis and rheumatism* **54**, 1906-1916, doi:10.1002/art.21890 (2006)).

Se desarrolló un ensayo para determinar el efecto de los anticuerpos sobre la normalización de la señal de IFN-I presente en la sangre entera heparinizada de pacientes con SLE. La expresión del gen MX1 inducible por IFN-I (resistencia 1 a mixovirus) se usó como un marcador para la actividad de IFN-I.

15 Materiales

De 2 a 4 h después de la recogida de la sangre de pacientes sanos o con SLE en tubos con heparina de sodio, se sembraron 240 μ l en placas de fondo en U de 96 pocillos que contienen anticuerpos anti- IFN- α/ω o control de isotipo IgG1 humana. Los anticuerpos diluidos en PBS se añadieron 30 μ l por pocillo a 240 μ l de

sangre. Después de 24 h de incubación a 37 °C, 745 µl de reactivo de estabilización PAXgene (QIAGEN) se añadió a una placa de 96 pocillos profundos y las muestras de sangre se transfirieron y se mezclaron completamente mediante pipeta. Las placas se sellaron y se congelaron a - 80 °C hasta un nuevo

5 procesamiento. Después de descongelar, las muestras se transfirieron a tubos con sellos de seguridad de 2 ml (Eppendorf) y se centrifugaron a 5000xg durante 10 minutos. Los sobrenadantes se aspiraron y los sedimentos de las muestras se resuspendieron en 432 µl de agua libre de DNasa/RNasa mediante movimiento intenso vorticial. Las muestras se centrifugaron adicionalmente a 5000xg y los
10 sedimentos se resuspendieron en 350 µl de tampón BR1. 300 µl de tampón BR2 se añadió a continuación seguido por 40 µl de proteinasa K y las muestras se incubaron a 55 °C y se agitaron a 800 rpm durante 10 minutos. Se siguió el protocolo del fabricante por el resto de la purificación (QIAGEN, cat #762164). 120 ng de ARN total de cada muestra se convirtió en ADNc con el uso del estuche
15 iScript de síntesis de ADNc (BIO-RAD) y se usaron para la qPCR los pares cebador/sonda para MX1 humano y beta actina (ACTB) (cat # Hs00895608_m1 y Hs01060665_g1, respectivamente). Los datos se recogieron en un sistema de PCR en tiempo real Viia7 y se analizaron con el uso de Graphpad Prism que representa el cambio en la expresión de MX1 con relación a ACTB (dCT).

20

Resultados

La capacidad de los anticuerpos IFN- α/ω para disminuir la señal de IFN-I en la sangre del paciente se evaluó mediante el uso de expresión génica de MX1 como un marcador para la actividad de IFN-I.

La expresión del gen MX1 se incrementó aproximadamente 7 veces en la
 5 sangre de un paciente con SLE cuando se compara con un control sano. Los anticuerpos anti-IFN- α/ω probados redujeron dependiente de la dosis la expresión de MX1 en la sangre de pacientes con SLE después de 24 horas de incubación, y a la más alta concentración de anticuerpo, la expresión de MX1 se normalizó cercano a los niveles observados en el control sano. La **Figura 13** muestra el efecto del tratamiento
 10 con el anticuerpo en la expresión de MX1 en un donante con SLE normalizada con la expresión de beta actina, y es representativo de múltiples donantes que tienen elevada expresión basal de MX1 cuando se comparan con controles sanos.

Ejemplo 15. Anticuerpos anti-IFN- α/ω neutralizan los IFN tipo I de cyno

15 La capacidad de los anticuerpos anti-IFN- α/ω seleccionados para neutralizar varios IFN tipo I de cynomolgus se evaluó mediante el uso del ensayo de genes indicadores del ISRE.

El IFN- α 2 de cynomolgus (PBL Assay Sciences), IFN- α 4 (Sino Biological), IFN- α 8 (Sino Biological), e IFN- α 13 (Sino Biological) se usaron en los ensayos. Se
 20 determinaron los valores de IC₅₀ mediante el uso de los valores de EC₇₅ determinados previamente para cada IFN (0,078 ng/ml para IFN- α 2, 2,68 ng/ml para IFN- α 4, 0,66 ng/ml para IFN- α 8 y 18,4 para IFN- α 13). La IC₅₀ de los mAb anti-IFN- α/ω seleccionados se muestra en la **Tabla 29**). Los datos en la Tabla 20 es un

promedio de dos experimentos independientes. Los mAB para IFN- α/ω IFWM3525 e IFWM3522 exhibieron propiedades similares de neutralización cruzada entre los antígenos ortólogos de cynomolgus y humanos disponibles para la prueba. La falta de neutralización de IFN- α 13 de cynomolgus era de esperar, ya que esta molécula, al igual que el IFN- α D humano, tiene una serina en la posición 27 (S27).

Tabla 29.

mAb	IC ₅₀ Media (ng/ml) +/- SD				
	IFN- α 13 de Cyno	IFN- α 4 de Cyno	IFN- α 2 de Cyno	IFN- α 8 de Cyno	IFN- ω de Cyno
IFWM3525	921,5 +/- 294,9	6,769 +/- 0,1923	3,346 +/- 0,1747	0,5668 +/- 0,07085	0,9568 +/- 0,1276
IFWM3522	8063 +/- 2562	7,348 +/- 0,7616	9,887 +/- 2,918	0,5497 +/- 0,03734	2,028 +/- 0,3691

Ejemplo 16. Estructura cristalina de IFWM3421 en complejo con IFN- ω T80E

La cristalización, recolección de datos de rayos X y determinación de la estructura se realizó esencialmente según se describe en el Ejemplo 6, excepto por los cambios siguientes:

El complejo se preparó mediante la mezcla de IFN- ω : Fab en una relación de 1,05:1,00 (exceso de IFN- ω), se incubó a 4 °C durante toda la noche, y, después, se concentró sin purificación hasta 8,37 mg/mL en 20 mM de Tris pH 7,4, 50 mM de NaCl. Los cristales para la recolección de datos de rayos X se obtuvieron de HEPES pH 7,5, 0,2 M de Li₂SO₄, 18 % de PEG 3350 con siembra MMS.

Para la recolección de datos de rayos X para el complejo IFN ω /Fab3186, un cristal se embebió en licor madre sintético (0,1 M de HEPES, pH 7,5, 20 % de PEG 3350, 0,2 M de LiSO₄ con 20 % de glicerol) y se ultracongeló en nitrógeno líquido.

Los datos de rayos X se recogieron en APS (Argonne National Lab). ELN

- 5 ATeplak-2013-0014. Los datos de la difracción se procesaron con XDS. Las estadísticas de refinamiento estructural se proporcionan en la **Tabla 30**.

Tabla 30.

IFN ω /FabM3421	
<i>Datos de cristal</i>	
Grupo espacial	C2
Dimensiones de celda unitaria	
a, b, c (Å)	77,48, 69,89, 127,38
α , β , γ (°)	90, 102,39, 90
Contenido de unidad asimétrica	complejo 1
<i>Datos de rayos X</i>	
Resolución (Å)	50,00-1,90 (1,94-1,90)
Número de reflexiones medidas	160.439 (10.287)
Número de reflexiones únicas	49.423 (3.356)
Completamiento (%)	98,3 (91,1)
R _{merge}	0,095 (0,643)
<I/ σ >	9,8 (2,5)
Factor B (trazado de Wilson) (Å ²)	26,6
<i>Refinamiento</i>	
Resolución (Å)	44,36-1,90 (1,94-1,90)
Número de refl usados en el refinamiento	49.411 (2.292)
Número de todos los átomos	4.249
Número de moléculas de agua	442
R _{crist} (%)	19,0 (42,1)
R _{libre} (%)	22,8 (39,8)

Longitudes de unión RMSD (Å)	0,008
Ángulos de unión RMSD (°)	1,12
cadena principal del factor B RMSD (Å ²)	4,9
Media del factor B (Å ²)	34,1
Proteína	33,6
Disolvente	38,3
MolProbity [25]	
Calificación de choques	3,2
Valores atípicos de rotámero (%)	2,5
Ramachandran favorecido (%)	98,2
Valores atípicos de Ramachandran (%)	0,0
Desviación C β > 0,25 Å	0

*Valores para shell de alta resolución están entre paréntesis

La estructura cristalina de IFN ω /Fab3421 se determinó a 1,9 Å (**Tabla 30**). El modelo de IFN- ω contenía residuos de 23-39 y 118-153. La mayor parte de la molécula de IFN- ω no tuvo ninguna densidad de electrones y no hubo espacio para ellos en el cristal, lo que sugiere que el clivaje de IFN- ω sucedió además.

La estructura general del complejo IFN- ω /Fab3421 fue muy similar al IFN ω /FabM371. Las estructuras de la cadena principal de los componentes individuales (VH, VL e IFN ω) son casi idénticas (C α rmsd 0,17, 0,23 y 0,36 Å, respectivamente).

Hubo, sin embargo, un número de diferencias estructurales significativas. En primer lugar, cuando las dos estructuras se superpusieron sobre la VL, VH se rotó por el antígeno rotado cerca de 4 grados y el antígeno rotó cerca de 11 grados, lo que conduce a un mayor desplazamiento de la molécula de IFN- ω con respecto a VL. En segundo lugar, las estructuras de los enlaces de H y el agua (WC2 en particular) fueron diferentes entre las dos estructuras (Figura 14A y 14B). R33 de IFN- ω hace enlaces de 6 H que incluyen un puente salino con D107 de HCDR3 en

el complejo M371 original (Figura 14A). En la forma madura, la densidad de electrones de la cadena lateral, tanto para R33 de IFN- ω como D107 de VH está menos bien definida (no se muestra) y parecen ser más separados, lo que reduce así el número y fuerza de las interacciones carga-carga (Figura 14B). Una molécula de agua que involucra H99 de VH en M371 ahora se encuentra ausente (Figuras 14A, 14B). En tercer lugar, F108 de HCDR3 no está involucrado en la unión al antígeno, pero es parte de la interfase VL/VH. Este adopta dos conformaciones alternativas en la estructura original (Figura 14C). La rotación relativa de los dominios VL/VH junto con la mutación L96I en VL la redujo a un solo rotámero. Por lo tanto parece que parte de las mutaciones para la maduración conducen a mejor apareamiento de Fv. En cuarto lugar, dos posiciones se mutaron a F (A50F y Y32F) durante la maduración. Y32 forma dos enlaces de H con la cadena principal de IFN- ω . Pero estas, además, se perdieron como resultado de mutación a F (Figura 14D). La mutación A50F no genera ningún nuevo contacto con el antígeno. Más bien su anillo de fenilo se apila con W104 de VH, que a su vez se empaqueta con el antígeno (Figura 14D). En la LCDR3, dos mutaciones adicionales hidrofóbicas (T94L y L96I parecen formar mejor bolsillo hidrofóbico para L30 y F27 del antígeno. Otras dos mutaciones adicionales de carga negativa (S39D y S93D) no forman ninguna de las interacciones, excepto con el disolvente. Generalmente, la mejora de la afinidad es el resultado del proceso de maduración que reduce las interacciones polares pero favorece/refuerza el empaquetamiento hidrofóbico con el antígeno así como también mejor apareamiento de VL/VH.

Los residuos del epítipo y parátipo. La Figura 15 muestra la interacción 2D del mAB entre IFN- ω e IFWM3421. Los residuos del epítipo son idénticos a aquellos en la estructura M371. Los residuos del parátipo son, además, casi idénticos (Figura 15). Sin embargo, como se describió anteriormente, el proceso de
5 maduración resultó en un número de diferencias estructurales y de la interacción, que probablemente explican el mejoramiento en la afinidad de unión.

Ejemplo 17. Estructura del cristal de IFWM3525 1 en complejo con IFN- ω T80E

La cristalización, recolección de datos de rayos X y determinación de la
10 estructura se realizó esencialmente según se describe en el Ejemplo 6.

El complejo se preparó mediante mezcla de IFN- ω con Fab de IFWM3525 en una relación molar de 1,05:1,0 (exceso de IFN- ω , 1,92: 1,12 mg), se incubó a 4 °C durante toda la noche, y se purificó en una columna Superdex 200 equilibrada con 20 mm de HEPES pH 7,5, 0,25 M de NaCl, 10 % de glicerol, y después se concentró
15 hasta 9,79 mg/ml. Los cristales adecuados para la difracción de rayos X se obtuvieron de 18 % de PEG 3K, 0,2 M de citrato de sodio por siembra MMS, con semillas de cristales de IFN- ω /Fab3186.

Para la recolección de datos de rayos X, un cristal del complejo IFN- ω /IFWM3525 se embebió durante unos pocos segundos en un licor madre sintético
20 (20 % de PEG 3350, 0,2 M de citrato de sodio, 25 % de glicerol), y se ultracongeló en nitrógeno líquido. Los datos de rayos X se recogieron en APS (Argonne National Lab). Los datos de difracción se procesaron con XDS¹⁰.

La estructura del complejo IFN- ω /IFWM3525 se resolvió mediante reemplazo molecular (MR) con Phaser. Los modelos de búsqueda para MR fueron la estructura de cristal de IFN- ω /FabM371. La estructura se refinó después con PHENIX y los ajustes del modelo se llevaron a cabo mediante el uso de COOT.

- 5 Todos los otros cálculos cristalográficos se realizaron con el conjunto de programas CCP4. Todos los gráficos moleculares se generaron con PyMol. Las estadísticas de refinamiento estructurales se muestran en la Tabla 31.

Tabla 31.

10

	IFN ω /Fab IFWM3525
<i>Datos de cristal</i>	
Grupo espacial	C2
Dimensiones de celda unitaria	
a, b, c (Å)	169,53, 132,78, 144,19
α , β , γ (°)	90, 120,43, 90
Contenido de unidad asimétrica	complejo 4
<i>Datos de rayos X</i>	
Resolución (Å)	50-3,14 (3,22-3,14)
Número de reflexiones medidas	161.700 (9.097)
Número de reflexiones únicas	47.615 (3.033)
Completamiento (%)	98,30 (85,1)
R _{merge}	0,106 (0,877)
<I/ σ >	10,7 (1,6)
Factor B (trazado de Wilson) (Å ²)	79,9
<i>Refinamiento</i>	
Resolución (Å)	47,9-3,14 (3,20-3,14)
Número de refl usados en el refinamiento	47.403 (2.685)
Número de todos los átomos	14.880
Número de las moléculas del solvente	0
R _{crist} (%)	24,4 (37,1)

Rlibre (%)	28,4 (42,0)
Longitudes de unión RMSD (Å)	0,002
Ángulos de unión RMSD (°)	0,60
cadena principal del factor B RMSD (Å ²)	5,2
Media del factor B (Å ²)	88,9
Proteína	88,9
Disolvente	N/A
MolProbity [25]	
Calificación de choques	3,2
Valores atípicos de rotámero (%)	0,4
Ramachandran favorecido (%)	96,1
Valores atípicos de Ramachandran (%)	0,3
Desviación C β deviation (> 0,25 Å)	0

*Valores para shell de alta resolución están entre paréntesis

La estructura general del complejo IFN- ω /IFWM35258 fue muy similar al IFN- ω /FabM371. Los modelos moleculares para moléculas de IFN- ω incluye residuos 23-39 y 119-153, que corresponde a segmento helicoidal AB y hélices D y E. La las

5 hélices A, B y C y los lazos de conexión están desordenadas. Estas partes ausentes del IFN- ω se deben probablemente a una limitada proteolisis como se encuentra para las estructuras de los complejos M371 y M3241. El modelo molecular de Fab contiene residuos de 1 a 213 para la cadena ligera y de 1 a 222 para la cadena pesada. La etiqueta de 6xHis del extremo C-terminal, el enlace disulfuro intercatenario y residuos

10 de 137-141 de la cadena pesada están desordenados. No se incluyeron moléculas de agua de disolvente debido a la baja resolución de difracción.

La Figura 16 muestra un mapa de interacción bidimensional entre IFN- ω y Fab de IFWM3525. Los residuos del epítipo F27, L30, y R33 de la hélice AB explican la mayor parte de las interacciones Ab/Ag. Por lo tanto, esta región de

15 IFN- ω parece constituir la parte principal del epítipo. En comparación con el M371

original, el epítopo contiene dos residuos más de la hélice E de IFN- ω que forman las interacciones con HCDR3 de IFWM3525.

IFWM3525 tiene amplia especificidad de unión para IFN ω y la mayor parte de los subtipos de IFN α . Este no se une a IFN β e IFN α -D/1. El alineamiento de secuencias de los IFN (Figura 9) indica que los residuos del epítopo de IFWM3525 están altamente conservados entre los subtipos de IFN- ω e IFN- α . Adicionalmente, la comparación estructural de residuos del epítopo en IFN- α (código PDB 2RH2, que se reconstruyó y refinó mediante el uso de datos depositados solo como traza Ca estaba disponible en PDB) e IFN- ω indican que los residuos del epítopo tienen estructuras de la cadena principal y de la cadena secundaria muy similares. Así, las conservaciones de la secuencia y de la estructura (o la conservación del epítopo) probablemente son responsables de la amplia unión de IFN α/ω por IFWM3525.

Listado de secuencias

Sec. con número de ident.:	Tipo	Especie	Descripción	Secuencia de aminoácidos (o secuencia de nucleótidos, según sea aplicable)
1	PRT	Homo sapiens	IFN ω humano	CDLPQNHGLLSRNTLVLLHQMRRISPFLCLKDRRDFRF PQEMVKGSQQLQKAHVMSVLHEMLQQIFSLFHTERSAA WNMTLLDQLHTGLHQQQLQHLETCLLQVVGEGESAGAIS SPALTLRRYFQGIRVYLKEKKYSDCAWEVVRMEIMKSL FLSTNMQERLRSKDRDLGSS
2	PRT	Homo sapiens	IFN ω T80E humano	CDLPQNHGLLSRNTLVLLHQMRRISPFLCLKDRRDFRF PQEMVKGSQQLQKAHVMSVLHEMLQQIFSLFHTERSAA WNMTLLDQLHTGLHQQQLQHLETCLLQVVGEGESAGAIS SPALTLRRYFQGIRVYLKEKKYSDCAWEVVRMEIMKSL FLSTNMQERLRSKDRDLGSS
3	PRT	Chimpancé	IFN ω chimpancé	CDLPQNHGLLSRNTLVLLHQMRRISPFLCLKDRRDFRF PQEMVKGSQQLQKAQVMSVLHEMLQQIFSLFHTERSAA WNMTLLDQLHTGLHQQQLQHLETCLLQVMGEGESAGAIS SPALTLRRYFQGIRVYLKEKKYSDCAWEVVRMEIMKSL FLSTNMQERLRSKDRDLGSSRNDSH

4	PRT	Cyno	IFN ω Cyno	CDLPQNHGLLSRNTLVLLHQMRRI SPFLCKLDRRDFRF PQEMVEGSQ LQKAQVMSVLHEMLQQIFSLFHTHESSAA WNTTLLDHLHTGLHRQLEHLETCLVQVMREGESAGAIR SPALT LRRYFQGIRVYLKEKKYSDCAWVVVRMEIMKSL FLSTNMQERLKS K D G D L G S S
5	PRT	Homo sapiens	alfa A	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFGF PQEEFDGNQFQKAETIPVLHEMIQQTFNLFSTKDSSAAW DETLLDKFYTELYQQ LNDLEACVIQGVGTETPLMKED SILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFS LSTNLQESLRSKE
6	PRT	Homo sapiens	IFN alfa B2	CDLPQTHSLGNRRALILLAQMRRISPFSCLKDRHDFEF PQEEFDGKQFQKAQAISVLHEMIQQTFNLFSTKDSSAA LDETLLDEFYIELDQQ LNDLESCVMQEVGVIESPLMYE DSILAVRKYFQRITLYLTEKKYSSCAWEVVRAEIMRSF SLSINLQKRLKSKE
7	PRT	Homo sapiens	alfa C	CDLPQTHSLGNRRALILLGQMGRISPFSCLKDRHDFRI PQEEFDGNQFQKAQAISVLHEMIQQTFNLFSTEDSSAA WEQSLLEKFSTELYQQ LNDLEACVIQEVGVEETPLMNE DSILAVRKYFQRITLYLIERKYSPCAWEVVRAEIMRSL SFSTNLQKRLRRKD
8	PRT	Homo sapiens	alfa D	CDLPETHSLDNRRTLMLLAQMSRISPSSCLMDRHDFGF PQEEFDGNQFQKAPASVLHELIQQIFNLFSTKDSSAA WDEDLLDKFCTELYQQ LNDLEACVMQEERVGETPLMNV DSILAVKKYFRRITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIMRSL SLSTNLQERLRRKE
9	PRT	Homo sapiens	alfa F	CDLPQTHSLGNRRALILLAQMGRISPFSCLKDRHDFGF PQEEFDGNQFQKAQAISVLHEMIQQTFNLFSTKDSSAT WEQSLLEKFSTELNQQ LNDMEACVIQEVGVEETPLMNV DSILAVKKYFQRITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIMRSF SLSKIFQERLRRKE
10	PRT	Homo sapiens	alfa G	CDLPQTHSLSNRRTLMIMAQMGRISPFSCLKDRHDFGF PQEEFDGNQFQKAQAISVLHEMIQQTFNLFSTKDSSAT WDETLLDKFYTELYQQ LNDLEACMMQEVGVEDTPLMNV DSILTVRKYFQRITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIMRSF SLSANLQERLRRKE
11	PRT	Homo sapiens	alfa H2	CNLSQTHSLNRRTLMLMAQMRRISPFSCLKDRHDFEF PQEEFDGNQFQKAQAISVLHEMMQQTTFNLFSTKNSSAA WDETLLLEKFYIELFQQMNDLEACVIQEVGVEETPLMNE DSILAVKKYFQRITLYLMEKKYSPCAWEVVRAEIMRSL SFSTNLQKRLRRKD
12	PRT	Homo sapiens	IFN- α I	CDLPQTHSLGNRRALILLAQMGRISPFSCLKDRPDFGL PQEEFDGNQFQKTQAISVLHEMIQQTFNLFSTEDSSAA WEQSLLEKFSTELYQQ LNNLEACVIQEVGMEETPLMNE DSILAVRKYFQRITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIMRSL SFSTNLQKILRRKD
13	PRT	Homo sapiens	alfa J1	CDLPQTHSLNRNRRALILLAQMGRISPFSCLKDRHEFRF PEEEFDGHQFQKTQAISVLHEMIQQTFNLFSTEDSSAA WEQSLLEKFSTELYQQ LNDLEACVIQEVGVEETPLMNE DFILAVRKYFQRITLYLMEKKYSPCAWEVVRAEIMRSF SFSTNLKKG L R R K D
14	PRT	Homo sapiens	alfa K	CDLPQTHSLGHRRTMMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFRF PQEEFDGNQFQKAEASVLHEVIQQTFNLFSTKDSSVA WDERLLDKLYTELYQQ LNDLEACVMQEVWGGTPLMNE DSILAVRKYFQRITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIMRSF

				SSSRNLQERLRRKE
15	PRT	Homo sapiens	alfa 4b	CDLPQTHSLGNRRALILLAQMGRISHFSLKDRHDFGF PEEEFDGHQFQKTQAISVLHEMIQQTfNLFSTEDSSAA WEQSLLEKFSTELYQQLNDLEACVIQEVGVEETPLMNV DSILAVRKYFQRITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIMRSL SFSTNLQKRLRRKD
16	PRT	Homo sapiens	alfa WA	CDLPQTHSLGNRRALILLAQMGRISHFSLKDRYDFGF PQEVFDGNQFQKAQAISAFHEMIQQTfNLFSTKDSSAA WDETLLDKFYIELFQQLNDLEACVTQEVGVVEEIALMNE DSILAVRKYFQRITLYLMGKKYSPCAWEVVRAEIMRSF SFSTNLQKGLRRKD
17	PRT	Homo sapiens	IFN-a2	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSLKDRHDFGF PQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQTfNLFSTKDSSAAW DETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTEETPLMKED SILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFS LSTNLQESLRSKE
18	PRT	Homo sapiens	IFN-a1	CDLPETHSLDNRRTLMLLAQMSRISPSSCLMDRHDFGF PQEEFDGNQFQKAPAVISLHELIQQTfNLFSTTKDSSAA WDEDLLDKFCTELYQQLNDLEACVMQEERVGETPLMNA DSILAVKKYFRITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIMRSL SLSTNLQERLRRKE
19	PRT	Homo sapiens	IFN-a4a	CDLPQTHSLGNRRALILLAQMGRISHFSLKDRHDFGF PEEEFDGHQFQKAQAISVLHEMIQQTfNLFSTEDSSAA WEQSLLEKFSTELYQQLNDLEACVIQEVGVEETPLMNE DSILAVRKYFQRITLYLTEKKYSPCAWEVVRAEIMRSL SFSTNLQKRLRRKD
20	PRT	Homo sapiens	IFN-b	MSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNF DIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLNIFAIFRQDSSS TGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRG KLMSSLHLKRYYGRIHLHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILR NFYFINRLTGylRN
21	PRT	Secuencia artificial	Péptido señal	MALTFYLLVALVVLVSYSKSFSSLG
22	PRT	Secuencia artificial	Péptido señal	MARSFSLLMVVLVLSYSKICS LG
23	PRT	Secuencia artificial	Péptido señal	MALPFALLMALVVLSCSKSSCSLD
24	PRT	Secuencia artificial	Péptido señal	MALSFSLLMAVLVLSYSKICS LG
25	PRT	Secuencia artificial	Péptido señal	MALTFALLVALLVLSCKSSCSVG
26	PRT	Homo sapiens	IFNAR1	1 mmvlllgatt lylvavapwv lsaaaggkn1 kspqkvevdi iddnfilrwn rsdesvgvnt 61 fsfdyqktgm dnwiklsgcq nitstkc nfs slklnvyeei klriraeken tsswyevdsf 121 tpfrkaqigp pevhleaedk aivihispgt kdsvmwaldg lsftyslviw knssgveeri 181 eniysrhkiy klspettycl kvkaalltsw kigvyspvhc ikttenelp ppenievsvq 241 nqnyvlkwdy tyanmtfqvq wlhafilkrnp gnhlykwwqi pdcenvkttq cvfpqnvfqk 301 giyllrvqas dgnntsfwse eikfdteiqa

				flppvfnir slsdsfhiyi gapkqsgntp 361 viqdypliye iifwentsna erkiekkt vtvpnlkplt vycvkarah mdeklnkssv 421 fsdavcektk pgntskiwli vgicialfal pfviyaakvf lrcinyvffp slkpssside 481 yfseqplknl llstseeqie kcfiienist iatveetnqt dedhkkysq tsqdsngysn 541 edesektse elqqdfv
27	PRT	Homo sapiens	IFNAR2	1 mllsqnafif rslnlvlmvy islvfgisyd spdytdesct fkislrnfrs ilswelknhs 61 ivpthytlly timskipedlk vvkncanttr sfcdltdewr stheayvtvl egfsgnttlf 121 scshnfwlai dmsfeppefe ivgftnhinv mvkfpsivee elqfdlsivi eeqsegivkk 181 hkpeikgnms gnftyiidkl ipntnycvsv ylehsdeqav iksplkctll ppggesesae 241 sakiggiitv flialvltst ivtlkwigyi clrnslpkvl rqqglakgwna vaihrcshna 301 lqsetpelkq ssclsfpssw dykraslcp d
28	PRT	Secuencia artificial	IFWH591	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR QMPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARHPGLNWAPDFDYWGQG TLVTVSS
29	PRT	Secuencia artificial	PH9L4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKEIK
30	PRT	Secuencia artificial	IFWH624	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR QMPGKGLEWMGIIDPSDSDTAYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARHPGLNWAPDFDYWGQG TLVTVSS
31	PRT	Secuencia artificial	IFWH629	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR QMPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARHPGLAWAPDFDYWGQG TLVTVSS
32	PRT	Secuencia artificial	IFWL983	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDGSLNWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDFPLTFGQGTKEIK
33	PRT	Secuencia artificial	IFWL991	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINRFLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQAIDLPTFGQGTKEIK
34	PRT	Secuencia artificial	IFWL992	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGSFLNWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYIPITFGQGTKEIK
35	PRT	Secuencia artificial	IFWL997	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGSALNWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDFPLTFGQGTKEIK
36	PRT	Secuencia artificial	IFWL998	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISKFLNWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSNTLPFTFGQGTKEIK
37	PRT	Secuencia artificial	IFWL999	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDEFLNWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQAHSFPLTFGQGTKEIK

38	PRT	Secuencia artificial	IFWL1000	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSITNFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSLDFPLTFGQGTKVEIK
39	PRT	Secuencia artificial	IFWL1001	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGDFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQALDFPLTFGQGTKVEIK
40	PRT	Secuencia artificial	IFWL1004	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIAEFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSIDFPLTFGQGTKVEIK
41	PRT	Secuencia artificial	IFWL1006	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGGFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYSLPITFGQGTKVEIK
42	PRT	Secuencia artificial	IFWL1007	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGKSLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDFPLTFGQGTKVEIK
43	PRT	Secuencia artificial	IFWL1009	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDDFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSHTLPLTFGQGTKVEIK
44	PRT	Secuencia artificial	IFWL1010	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDGALNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSFDFPLTFGQGTKVEIK
45	PRT	Secuencia artificial	IFWL1013	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINNFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSFNLPITFGQGTKVEIK
46	PRT	Secuencia artificial	IFWL1014	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDRALNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSFDFPLTFGQGTKVEIK
47	PRT	Secuencia artificial	IFWL1017	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSITSSLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSFDLPLTFGQGTKVEIK
48	PRT	Secuencia artificial	IFWL1022	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINEFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIK
49	PRT	Secuencia artificial	IFWL1026	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISKFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDFPITFGQGTKVEIK
50	PRT	Secuencia artificial	IFWL1038	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISEYLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSHSLPITFGQGTKVEIK
51	PRT	Secuencia artificial	IFWL1041	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSITGFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSHDFPLTFGQGTKVEIK
52	PRT	Secuencia artificial	IFWL1047	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINGVLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSHDFPLTFGQGTKVEIK
53	PRT	Secuencia artificial	IFWL1048	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDGALNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQAYDFPLTFGQGTKVEIK
54	PRT	Secuencia artificial	IFWL1051	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIADFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSHSFPLTFGQGTKVEIK

55	PRT	Secuencia artificial	IFWL1053	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSITNHLNHWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQAHNFLTFGQGTKVEIK
56	PRT	Secuencia artificial	IFWL1060	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRNSLNHWYQQ KPGKAPKLLIKWASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQLYDWPLTFGQGTKVEIK
57	PRT	Secuencia artificial	IFWL1063	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIANNLNHWYQ QKPGKAPKLLIHWASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SSLQPEDFATYYCQQGYDTPFTFGQGTKVEIK
58	PRT	Secuencia artificial	IFWL1064	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINNHNHWYQQ PGKAPKLLIYWASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS LQPEDFATYYCQQGYDTPFTFGQGTKVEIK
59	PRT	Secuencia artificial	IFWL1067	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRNNLNHWYQ QKPGKAPKLLIHWASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SSLQPEDFATYYCQQGYDTPFTFGQGTKVEIK
60	PRT	Secuencia artificial	IFWL1071	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRNNSLNHWYQ QKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SSLQPEDFATYYCQQDYNWPLTFGQGTKVEIK
61	PRT	Secuencia artificial	IFWL1073	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDNSYNHWYQ QKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SSLQPEDFATYYCQQGWDWPLTFGQGTKVEIK
62	PRT	Secuencia artificial	IFWL1074	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIANTNLNHWYQ QKPGKAPKLLIHWASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SSLQPEDFATYYCQQWYDNPLTFGQGTKVEIK
63	PRT	Secuencia artificial	IFWL1076	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDNNLNHWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SSLQPEDFATYYCQQGYDWPLTFGQGTKVEIK
64	PRT	Secuencia artificial	IFWL1082	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRNNSLNHWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SSLQPEDFATYYCQQDYNWPLTFGQGTKVEIK
65	PRT	Secuencia artificial	IFWL1084	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINYLNHWYQQ PGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS LQPEDFATYYCQQSHDWPITFGQGTKVEIK
66	PRT	Secuencia artificial	IFWL1085	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRNNYNHWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SSLQPEDFATYYCQQGYDTPFTFGQGTKVEIK
67	PRT	Secuencia artificial	IFWL1087	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSNHNHWYQ QKPGKAPKLLIHWASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SSLQPEDFATYYCQQWYDHPLTFGQGTKVEIK
68	PRT	Secuencia artificial	IFWL1091	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRNTNLNHWYQ QKPGKAPKLLIHWASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SSLQPEDFATYYCQQGYDTPFTFGQGTKVEIK
69	PRT	Secuencia artificial	IFWL1093	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIANNDLNHWYQ QKPGKAPKLLIHWASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SSLQPEDFATYYCQQDYDWPLTFGQGTKVEIK
70	PRT	Secuencia artificial	IFWL1049	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIAGFLNHWYQQ KPGKAPKLLIYASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYSIPITFGQGTKVEIK
71	PRT	Secuencia artificial	IFWL984	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDGFLNHWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK

72	ADN	Secuencia artificial	ADNc de IFWL984	GATATTCAGATGACCCAGAGCCCCGAGCAGCCTGAGCGC GAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTACCTGCCGCGCGA GCCAGAGCATTGATGGGTTCTGAACCTGGTATCAGCAG AAACCGGGCAAAGCGCCGAAACTGCTGATTTATTTTCGC GAGCAGCCTGCAGAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCG GCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTACCCTGACCATTAGC AGCCTGCAGCCGGAAGATTTTGCACCTATTATTGCCA GCAGTCCTACGACCTCCCGATTACATTTGGCCAGGGCA CCAAAGTGGAATTTAA
73	PRT	Secuencia artificial	IFWL1136	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIIEGALNHWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQAYDFPLTFGQGTKVEIK
74	PRT	Secuencia artificial	IFWL1144	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIIEGYLNHWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQAYDFPLTFGQGTKVEIK
75	PRT	Secuencia artificial	IFWL1148	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSALNHWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQAYDFPLTFGQGTKVEIK
76	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSIADF
77	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSIAEF
78	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSIANNN
79	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSIANTN
80	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSIDGA
81	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSIDGF
82	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSIDNSY
83	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSIDRA
84	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSIEGA
85	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSIGDF
86	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSIGKS
87	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSIGSA
88	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSINGV
89	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSIRNTN
90	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSISSA

91	PRT	Secuencia artificial	LCDR1	QSISSF
92	ADN	Secuencia artificial	ADNc de IFWL1164	GACATCCAAATGACGCAGTCTCCGAGCTCTCTGAGCGC ATCCGTGGGCGATCGCGTAACTATCACTTGTCGCGCCT CCCAGAGCATTGATAACTCCTATCTCAATTGGTATCAA CAAAAACCGGGTAAGGCACCGAAACTGCTGATTACGG AGCGTCCTCTCTGCAGTCCGGTGTGCCGTCCCCTTTCT CCGGCAGCGGTTCTGGTACCGATTTACGCTGACCATC AGCTCTCTGCAACCGGAGGACTTTGCTACGTACTACTG CCAACAGGGCTACGATTTCCCTCTCACATTCGGCCAAG GTACCAAAGTGGAATTAA
93	PRT	Secuencia artificial	LCDR2	FAS
94	PRT	Secuencia artificial	LCDR2	GAS
95	PRT	Secuencia artificial	LCDR2	WAS
96	PRT	Secuencia artificial	LCDR3	QQALDFPLT
97	PRT	Secuencia artificial	LCDR3	QQAYDFPLT
98	PRT	Secuencia artificial	LCDR3	QQGWDWPLT
99	PRT	Secuencia artificial	LCDR3	QQGYDFPLT
100	PRT	Secuencia artificial	LCDR3	QQGYDTPFT
101	PRT	Secuencia artificial	LCDR3	QQSFDFPLT
102	PRT	Secuencia artificial	LCDR3	QQSHDFPLT
103	PRT	Secuencia artificial	LCDR3	QQSHSFPLT
104	PRT	Secuencia artificial	LCDR3	QQSIDFPLT
105	PRT	Secuencia artificial	LCDR3	QQSYDFPLT
106	PRT	Secuencia artificial	LCDR3	QQSYDLPIT
107	PRT	Secuencia artificial	LCDR3	QQWYDNPLT
108	ADN	Secuencia artificial	ADNc de IFWL1048	GATATTCAGATGACCCAGAGCCCCGAGCAGCCTGAGCGC GAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTACCTGCCGCGCA GCCAGAGCATCGATGGCGCCCTGAACTGGTATCAGCAG AAACCGGGCAAAGCGCCGAACTGCTGATTTATTTTCGC GAGCAGCCTGCAGAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCG GCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTACCCTGACCATTAGC AGCCTGCAGCCGGAAGATTTTGCACCTATTATTGCCA GCAGGCCTACGACTTTCCGTTGACATTTGGCCAGGGCA

				CCAAAGTGGAAATTAAA
109	PRT	Artificial	HCDR1	GYSFTSYW
110	ADN	Secuencia artificial	ADNc de IFWH591	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAA GCCCCGGCGAGAGCCTGAAGATCAGCTGCAAGGGCAGCG GCTACAGCTTCACCAGCTACTGGATCGGCTGGGTGCGG CAGATGCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGCATCAT CGACCCAGCGACAGCGACACCCGGTACAGCCCCAGCT TCCAGGGCCAGGTGACCATCAGCGCCGACAAGAGCATC AGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCAG CGACACCGCCATGTACTACTGCGCCCGGCACCCCGGCC TGAAGTGGGCCCCGACTTCGACTACTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTGACCGTGAGCAGC
111	ADN	Secuencia artificial	HCDR2	IAPSDSDT
112	ADN	Secuencia artificial	HCDR2	IDASDSDT
113	ADN	Secuencia artificial	HCDR2	IDPSDSDT
114	PRT	Artificial	Los mAb de la secuencia consenso HCDR2 neutralizan al menos 3 IFNalfa	IX ₁₁ X ₁₂ SDSDT; en donde X ₁₁ es D o A; en donde X ₁₂ es P o A;
115	PRT	Artificial	HCDR3	ARHPGLAWAPDFDY
116	PRT	Artificial	HCDR3	ARHPGLNWAPDFDY
117	ADN	Secuencia artificial	ADNc de IFWH617	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAA GCCCCGGCGAGAGCCTGAAGATCAGCTGCAAGGGCAGCG GCTACAGCTTCACCAGCTACTGGATCGGCTGGGTGCGG CAGATGCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGCATCAT CGACGCCAGCGACAGCGACACCCGGTACAGCCCCAGCT TCCAGGGCCAGGTGACCATCAGCGCCGACAAGAGCATC AGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCAG CGACACCGCCATGTACTACTGCGCCCGGCACCCCGGCC TGAAGTGGGCCCCGACTTCGACTACTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTGACCGTGAGCAGC
118	PRT	Artificial	Los mAb de la secuencia consenso LCDR1 neutralizan al menos 3 IFNalfa	QSIX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ ; en donde X ₁ es G, D, A, R, E, S, o N; X ₂ es D, G, N, S, R, E o K; X ₃ es F, A, N, T, S o V; X ₄ es Y, N o suprimido.
119	PRT	Artificial	Los mAb de la secuencia consenso LCDR2 neutralizan al menos 3	X ₅ AS; en donde X ₅ es F, W o G.

			IFNalfa	
120	PRT	Artificial	Los mAb de la secuencia consenso LCDR3 neutralizan al menos 3 IFNalfa	QQX ₆ X ₇ X ₈ X ₉ PX ₁₀ T; en donde X ₆ es A, G, S o W; X ₇ es L, Y, H, W, F o I; X ₈ es D o S; X ₉ es F, T, L, N o W; y X ₁₀ es L, F o I.
121	PRT	Artificial	Los mAb de la secuencia consenso HCDR3 neutralizan al menos 3 IFNalfa	ARHPGLX ₁₃ WAPDFDY; en donde X ₁₃ es A o N.
122	ADN	Secuencia artificial	ADNc de IFWH629	GAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCCGAGGTGAAGAA GCCCCGGCGAGAGCCTGAAGATCAGCTGCAAGGGCAGCG GCTACAGCTTACCAGCTACTGGATCGGCTGGGTGCGG CAGATGCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGCATCAT CGACCCAGCGACAGCGACACCCGGTACAGCCCCAGCT TCCAGGGCCAGGTGACCATCAGCGCCGACAAGAGCATC AGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCAG CGACACCGCCATGTACTACTGCGCCCGGCACCCGGCC TGGCCTGGGCCCCGACTTCGACTACTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTGACCGTGAGCAGC
123	PRT	Artificial	IFWL1112	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIDGFLNHWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
124	PRT	Artificial	IFWL1113	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIDGFLNHWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
125	PRT	Artificial	IFWL1114	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIDGFLNHWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
126	PRT	Artificial	IFWL1115	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIDGFLNHWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
127	PRT	Artificial	IFWL1117	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIDGFLNHWYQQ KPGKAPKLLIYIASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
128	PRT	Artificial	IFWL1118	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIDGFLNHWYQQ KPGKAPKLLIYLASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
129	PRT	Artificial	IFWL1119	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIDGFLNHWYQQ KPGKAPKLLIYVASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
130	PRT	Artificial	IFWL1120	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIDGFLNHWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
131	PRT	Artificial	IFWL1121	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIDGFLNHWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK

132	PRT	Artificial	IFWL1122	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIEGFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYIASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
133	PRT	Artificial	IFWL1123	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIEGFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYLASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
134	PRT	Artificial	IFWL1124	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIEGFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYVASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
135	PRT	Artificial	IFWL1125	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
136	PRT	Artificial	IFWL1126	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
137	PRT	Artificial	IFWL1129	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGDFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYYASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
138	PRT	Artificial	IFWL1173	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIEGYLNWWYQQ KPGKAPKLLIYYASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
139	PRT	Artificial	IFWL1174	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIEGFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYYASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
140	PRT	Artificial	IFWL1175	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYYASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYDLPITFGQGTKVEIK
141	PRT	Artificial	IFWL1135	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISGALNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQAYDFPLTFGQGTKVEIK
142	PRT	Artificial	IFWL1137	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDGYLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQAYDFPLTFGQGTKVEIK
143	PRT	Artificial	IFWL1143	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDGALNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQAYDLPLTFGQGTKVEIK
144	PRT	Artificial	IFWL1149	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQAYDFPLTFGQGTKVEIK
145	PRT	Artificial	IFWL1152	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSALNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQAYDLPLTFGQGTKVEIK
146	PRT	Artificial	IFWL1155	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWWYQQ KPGKAPKLLIYFASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQAYDLPLTFGQGTKVEIK
147	PRT	Artificial	IFWL1161	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGDFLNWWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQAYDLPLTFGQGTKVEIK
148	PRT	Artificial	IFWL1162	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDNSYLNWWYQ QKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGYDWPLTFGQGTKVEIK

149	PRT	Artificial	IFWL1163	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIDNSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGWFPLTFGQGTKVEIK
150	PRT	Artificial	IFWL1164	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIDNSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGYDFPLTFGQGTKVEIK
151	PRT	Artificial	IFWL1176	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIDQSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGYDFPLTFGQGTKVEIK
152	PRT	Artificial	IFWL1177	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIDTSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGYDFPLTFGQGTKVEIK
153	PRT	Artificial	IFWL1178	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIDNTYLNWYQ QKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGYDFPLTFGQGTKVEIK
154	PRT	Artificial	LCDR3	QQSYDFPL
155	PRT	Homo sapiens	IGHV5-51	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR QMPGKGLEWMGIIYPGSDSDTRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAVYYCAR
156	PRT	Homo sapiens	IGKV1D-39	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYSTPWTFTFGQGTKVEIK
157	PRT	Secuencia artificial	IFWH615	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR QMPGKGLEWMGIIAPSDSDTRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARHPGLNWAPDFDYWGQG TLVTVSS
158	PRT	Secuencia artificial	IFWH617	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR QMPGKGLEWMGIIDASDSDTRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARHPGLNWAPDFDYWGQG TLVTVSS
159	PRT	Artificial	Los mAb de la secuencia consenso LCDR1 neutralizan al menos 6 IFNalfa	QSIX ₁₄ X ₁₅ X ₁₆ X ₁₇ ; en donde X ₁₄ es G, D, A, E, S, o N; X ₁₅ es D, G, N, S o R; X ₁₆ es F, A, N, S o V; y X ₁₇ es Y, N o se suprime.
160	PRT	Artificial	Los mAb de la secuencia consenso LCDR3 neutralizan al menos 6 IFNalfa	QQX ₁₈ X ₁₉ X ₂₀ X ₂₁ PX ₂₂ T; en donde X ₁₈ es A, G o S; X ₁₉ es Y, H, W o F; X ₂₀ es D o S; X ₂₁ es F, T, L o W; y X ₂₂ es L, F o I.
161	PRT	Artificial	Los mAb de la secuencia consenso LCDR1 neutralizan al menos 10 IFNalfa	QSIX ₂₃ X ₂₄ X ₂₅ X ₂₆ ; en donde X ₂₃ es A o D; X ₂₄ es N o G; X ₂₅ es F, N o S; y X ₂₆ es Y, N o se suprime.
162	PRT	Artificial	Los mAb de	QQX ₂₇ X ₂₈ X ₂₉ X ₃₀ PX ₃₁ T; en donde

			la secuencia consenso LCDR3 neutralizan al menos 10 IFNalfa	X_{27} es A, G o S; X_{28} es Y; X_{29} es D; X_{30} es F, T, o L; y X_{31} es L, F o I.
--	--	--	--	--