

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

- 5           1. Una proteína de unión a LOX1 aislada que comprende un conjunto de regiones determinantes de la complementariedad (CDR): la CDR1 de la región variable de la cadena pesada (VH), CDR2-VH, CDR3-VH y la CDR1 de la región variable de la cadena ligera (VL), CDR2-VL y CDR3-VL, donde  
10 el conjunto de CDR tienen un total de 18 o menos sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácidos respecto a un conjunto de CDR de referencia en el que:
- (i) CDR1-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:1;
- 15           (ii) CDR2-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:5;
- (iii) CDR3-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:14;
- (iv) CDR1-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la  
20 SEQ ID N0:30;
- (v) CDR2-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:31; y
- (vi) CDR3-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:32.
- 25           2. Una proteína de unión a LOX1 aislada que comprende un conjunto de regiones determinantes de la complementariedad (CDR): la CDR1 de la región variable de la cadena pesada (VH), CDR2-VH, CDR3-VH y la CDR1 de la región variable de la cadena ligera (VL), CDR2-VL y CDR3-VL, donde:

(a) (i) CDR1-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:1;

(ii) CDR2-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:2;

5 (iii) CDR3-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:3;

(iv) CDR1-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:30;

10 (v) CDR2-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:31; y

(vi) CDR3-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:32;

15 (b) (i) CDR1-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:1;

(ii) CDR2-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:5;

(iii) CDR3-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:14;

20 (iv) CDR1-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:30;

(v) CDR2-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:31; y

25 (vi) CDR3-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:32;

(c) (i) CDR1-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:38;

30 (ii) CDR2-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:39;

(iii) CDR3-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:44;

(iv) CDR1-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:55;

5 (v) CDR2-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:60; y

(vi) CDR3-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:61;

o

10 (d) (i) CDR1-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:38;

(ii) CDR2-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:39;

15 (iii) CDR3-VH tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:40;

(iv) CDR1-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:55;

(v) CDR2-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:56; y

20 (vi) CDR3-VL tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N0:57.

3. Una proteína de unión a LOX1 aislada que comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que tiene al menos un 90, 95, 97, 98 o un 99% de identidad secuencial con  
25 las SEQ ID N0s:4, 19-29, 41 o 48-54; y una región variable de la cadena ligera (VL) que tiene al menos un 90, 95, 97, 98 o un 99% de identidad secuencial con las SEQ ID N0s:33, 36, 37, 58 o 65-70.

4. Una proteína de unión a LOX1 aislada que comprende  
30 una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), donde la secuencia de VH

tiene un total de 15 o menos sustituciones, deleciones y/o inserciones de aminoácidos respecto a una secuencia de VH de referencia seleccionada a partir del grupo constituido por la SEQ ID NO: 4, 19-28 y 29, y la secuencia de VL tiene un total de 6 o menos sustituciones, adiciones y/o deleciones de aminoácidos respecto a una secuencia de VL de referencia seleccionada a partir del grupo constituido por la SEQ ID NO:33, 36 y 37.

5        5. Una proteína de unión a LOX1 aislada que comprende una región variable de la cadena pesada (VH) seleccionada a partir del grupo constituido por: una VH que comprende la SEQ ID NO:4, 19-29, 41 o 48-54; y una región variable de la cadena ligera (VL) seleccionada a partir del grupo constituido por una VL que comprende la SEQ ID NO:33, 36, 15 37, 58 o 65-70.

6. Una proteína de unión a LOX1 aislada que comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL) seleccionadas a partir del grupo constituido por:

20        (a) una VH que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una VL que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 33;

25        (b) una VH que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y una VL que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 33;

      (c) una VH que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41 y una VL que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 58 y

30        (d) una VH que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 54 y una VL que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70.

7. Una proteína de unión a LOX1 aislada que comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la SEQ ID NO:4 y una región variable de la cadena ligera (VL) que comprende la SEQ ID NO:33.

5 8. Una proteína de unión a LOX1 aislada que comprende un conjunto de regiones determinantes de la complementariedad (CDR): la CDR1 de la región variable de la cadena pesada (VH), CDR2-VH, CDR3-VH y la CDR1 de la región variable de la cadena ligera (VL), CDR2-VL y CDR3-VL tal  
10 como se muestra en la Tabla 1, Figura 4 o Figura 5.

9. Una proteína de unión a LOX1 aislada que comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL) tal como se muestra en la Tabla 1, Figura 4 o Figura 5.

15 10. Una proteína de unión a LOX1 aislada que comprende un conjunto de regiones determinantes de la complementariedad (CDR): la CDR1 de la región variable de la cadena pesada (VH), CDR2-VH, CDR3-VH y la CDR1 de la región variable de la cadena ligera (VL), CDR2-VL y CDR3-VL, donde:

20

(a) la CDR1-VH comprende la secuencia de aminoácidos:  
E L S M H (SEQ ID NO: 1);

(b) la CDR2-VH comprende la secuencia de aminoácidos:  
G F D P E D HX<sub>1</sub> HX<sub>2</sub> HX<sub>3</sub> HX<sub>4</sub> HX<sub>5</sub> HX<sub>6</sub> Q K F Q G (SEQ ID NO:  
25 71);

donde HX<sub>2</sub> se selecciona a partir del grupo constituido por G, W, Y y F,

HX<sub>2</sub> se selecciona a partir del grupo constituido por E, T, Q, K, A y S,

30 HX<sub>3</sub> se selecciona a partir del grupo constituido por T, Y, I y N,

HX4 se selecciona a partir del grupo constituido por I, A, R y H,

HX5 se selecciona a partir del grupo constituido por Y, V, T, L y Q, y

5 HX6 se selecciona a partir del grupo constituido por A, D, G, S y H;

(c) la CDR3-VH comprende la secuencia de aminoácidos:

10 HX<sub>7</sub> HX<sub>8</sub> G HX<sub>9</sub> HX<sub>10</sub> HX<sub>11</sub> HX<sub>12</sub> G V R G W D Y Y Y G M D V  
(SEQ ID NO: 72);

donde HX7 se selecciona a partir del grupo constituido por P, S y V,

HX8 se selecciona a partir del grupo constituido por N, W, D y T,

15 HX9 se selecciona a partir del grupo constituido por Q, R y T,

HX10 se selecciona a partir del grupo constituido por Q y H,

20 HX11 se selecciona a partir del grupo constituido por G y Q, y

HX12 se selecciona a partir del grupo constituido por K y G;

(d) la CDR1-VL comprende la secuencia de aminoácidos:

25 T G S S S N I G A G Y D V H (SEQ ID NO: 30);

(e) la CDR2-VL comprende la secuencia de aminoácidos:

G N S N R P S (SEQ ID NO: 31); y

(f) la CDR3-VL comprende la secuencia de aminoácidos:

30 Q S Y D S LX<sub>1</sub> LX<sub>2</sub> LX<sub>3</sub> LX<sub>4</sub> LX<sub>5</sub> LX<sub>6</sub> (SEQ ID NO: 73);

donde LX1 se selecciona a partir del grupo constituido por M y S,

LX2 se selecciona a partir del grupo constituido por L, Y y H,

5 LX3 se selecciona a partir del grupo constituido por S y R,

LX4 se selecciona a partir del grupo constituido por A y G o se omite (no hay aminoácido),

10 LX5 se selecciona a partir del grupo constituido por W y F, y

LX6 se selecciona a partir del grupo constituido por V, G y A.

11. Una proteína de unión a LOX1 aislada que se une al mismo epítipo que una proteína de unión a LOX1 aislada de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10.

12. Una proteína de unión a LOX1 aislada que compite por la unión a LOX1 con una proteína de unión a LOX1 aislada de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10.

13. Una proteína de unión a LOX1 aislada de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10, donde la proteína de unión a LOX1 reduce la actividad de LOX1, la inhibe o es un antagonista respecto a ella.

14. La proteína de unión a LOX1 aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, donde la proteína de unión a LOX1 tiene al menos una propiedad seleccionada a partir del grupo constituido por:

(a) reduce o inhibe la unión de oxLDL, proteína C-reactiva (CRP) y/o productos finales de glucación avanzada (AGE) a LOX1;

30 (b) disminuye o inhibe la señalización de RhoA/Rac1, monóxido de nitrógeno (NO), p38MAPK, proteína-cinasas B y C,

ERK1/2 y/o NF $\kappa$ B en una célula endotelial que expresa LOX1 en la superficie celular;

(c) disminuye o inhibe la actividad de la caspasa-8, caspasa-9 y/o BAX en una célula endotelial que expresa LOX1  
5 en la superficie celular;

(d) se une a LOX1 que tiene el polimorfismo mononucleotídico K167N;

(e) reduce o inhibe la internalización de oxLDL;

(f) reduce o inhibe la señalización de LOX1 inducida  
10 por oxLDL;

(g) se une a LOX1 con una constante de disociación ( $K_D$ ) de aproximadamente 150 pM a aproximadamente 600 pM o de aproximadamente 400 pM según se determina mediante BIACORE o KinExA;

(h) se une a LOX1 con una constante de velocidad  $K_{on}$  de aproximadamente  $1 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  a aproximadamente  $6 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  o de aproximadamente  $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  según se determina por BIACORE; y  
15

(i) se une a LOX1 con una constante de velocidad  $K_{off}$  de aproximadamente  $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  a aproximadamente  $3 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  o de aproximadamente  $2.3 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  según se determina por BIACORE.  
20

15. La proteína de unión a LOX1 aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, donde la proteína de unión a LOX1 es un anticuerpo.  
25

16. La proteína de unión a LOX1 aislada de la reivindicación 15, donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico,  
30 un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo multiespecífico o un fragmento de unión a LOX1 de un anticuerpo.

17. La proteína de unión a LOX1 aislada de la reivindicación 16, donde el fragmento de unión a LOX1 de un anticuerpo se selecciona a partir del grupo constituido por: un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento F(ab')<sub>2</sub>,  
5 un fragmento Fv, un diacuerpo o una molécula de anticuerpo monocatenaria.

18. La proteína de unión a LOX1 aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1-17, donde el anticuerpo o la proteína de unión a LOX1 comprende además un dominio  
10 constante de inmunoglobulina de la cadena pesada seleccionado a partir del grupo constituido por:

- (a) un dominio constante de la IgA humana;
- (b) un dominio constante de la IgD humana;
- (c) un dominio constante de la IgE humana;
- 15 (d) un dominio constante de la IgG1 humana;
- (e) un dominio constante de la IgG2 humana;
- (f) un dominio constante de la IgG3 humana;
- (g) un dominio constante de la IgG4 humana; y
- (h) un dominio constante de la IgM humana.

20 19. La proteína de unión a LOX1 aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1-18, donde el anticuerpo o la proteína de unión a LOX1 comprende además un dominio constante de inmunoglobulina de la cadena ligera seleccionado a partir del grupo constituido por:

- 25 (a) un dominio constante  $\kappa$  de la Ig humana; y
- (b) un dominio constante  $\lambda$  de la Ig humana.

20. La proteína de unión a LOX1 aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1-19, donde el anticuerpo o la proteína de unión a LOX1 comprende además un dominio  
30 constante de la cadena pesada de la IgG1 humana y un dominio constante de la cadena ligera  $\lambda$  humana.

21. La proteína de unión a LOX1 aislada de cualquiera de las reivindicaciones 18-20, donde el dominio de la región Fc constante de la IgG1 contiene una mutación en las posiciones 234, 235 y 331, siendo la numeración de la posición según el índice EU tal como en Kabat.

22. La proteína de unión a LOX1 aislada de la reivindicación 21, donde el dominio Fc de la IgG1 contiene las mutaciones L234F, L235E y P331S, siendo la numeración de la posición según el índice EU tal como en Kabat.

23. Una molécula de ácido nucleico aislado o conjunto de moléculas de ácido nucleico que codifican una proteína de unión a LOX1 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22.

24. La molécula de ácido nucleico aislada o conjunto de moléculas de ácido nucleico de la reivindicación 23 que es un ADNc.

25. Una molécula de ADNc o polinucleótido aislado suficiente para su uso como una sonda de hibridación, cebador de PCR o cebador de la secuenciación que es un fragmento de la molécula de ácido nucleico o conjunto de moléculas de ácido nucleico de la reivindicación 23 o 24, o su complementaria.

26. La molécula de ADNc o la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 23 o la reivindicación 24, donde la molécula de ácido nucleico está ligada operablemente a una secuencia de control.

27. Un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 23, 24 o 26.

28. Una célula hospedadora transformada con la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 23, 24 o 26 o el vector de la reivindicación 27.

29. La célula hospedadora de la reivindicación 28, donde la célula hospedadora es una célula hospedadora de mamíferos.

5 30. La célula hospedadora de mamíferos de la reivindicación 29, donde la célula hospedadora es una célula de mieloma murino NS0, una célula humana PER.C6® o una célula de ovario de hámster chino (CHO).

10 31. Un método para generar una proteína de unión a LOX1 de cualquiera de las reivindicaciones 1-22, que comprende cultivar una célula hospedadora de acuerdo con las reivindicaciones 28, 29 o 30 en condiciones adecuadas para producir la proteína de unión a LOX1.

15 32. El método de la reivindicación 31 que comprende además aislar la de unión a LOX1 secretada por la célula hospedadora.

33. Una proteína de unión a LOX1 producida utilizando el método de la reivindicación 32.

20 34. Una composición farmacéutica que comprende una proteína de unión a LOX1 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-22 o 33 y un portador farmacéuticamente aceptable.

35. La composición farmacéutica de la reivindicación 34, que además comprende un grupo marcador o un grupo efector.

25 36. La composición farmacéutica de la reivindicación 35, donde el grupo marcador se selecciona a partir del grupo constituido por: marcas isotópicas, marcas magnéticas, restos redox activos, tintes ópticos, grupos biotinilados, restos fluorescentes tales como péptidos señalizadores de biotina, proteínas fluorescentes verdes (GFP), proteínas fluorescentes azules (BFP), proteínas fluorescentes cian

30

(CFP) y proteínas fluorescentes amarillas (YFP), y epítomos polipéptidos reconocidos por un indicador secundario tal como un péptido de histidina (his), hemaglutinina (HA), péptido de unión a oro y Flag.

5           37. La composición farmacéutica de la reivindicación 35, donde el grupo efector se selecciona a partir del grupo constituido por un radioisótopo, radionúclido, una toxina, un agente terapéutico y un agente quimioterápico.

10           38. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 34-37 para su uso como un medicamento.

          39. El uso de la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 34-37 para tratar una enfermedad o afección asociada con LOX1.

15           40. El uso de acuerdo con la reivindicación 39, donde la enfermedad o afección se selecciona a partir del grupo constituido por: la aterosclerosis, trombosis, arteriopatía coronaria (CAD), isquemia (por ejemplo, isquemia de miocardio), infarto (por ejemplo, infarto de miocardio),  
20           síndrome coronario agudo (ACS), accidente cerebrovascular, lesión por reperusión, reestenosis, enfermedad vascular periférica, hipertensión, insuficiencia cardíaca, inflamación (por ejemplo, inflamación crónica), angiogénesis, preeclampsia y cáncer.

25           41. Un método para tratar, prevenir y/o mejorar una enfermedad o afección asociada con LOX1 en un sujeto, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de una composición que comprende una proteína de unión a LOX1 de cualquiera de las reivindicaciones 1-22  
30           o 33 o la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 34-37.

42. El método de la reivindicación 41, donde la enfermedad o afección se selecciona a partir del grupo constituido por la aterosclerosis, trombosis, arteriopatía coronaria (CAD), isquemia (por ejemplo, isquemia de miocardio), infarto (por ejemplo, infarto de miocardio), síndrome coronario agudo (ACS), accidente cerebrovascular, lesión por reperfusión, reestenosis, enfermedad vascular periférica, hipertensión, insuficiencia cardíaca, inflamación (por ejemplo, inflamación crónica), angiogénesis, preeclampsia y cáncer.

43. El método de la reivindicación 41, donde la proteína de unión a LOX1 o la composición farmacéutica se administra sola o como una terapia combinada.

44. Un método para reducir o inhibir la actividad de LOX1 en un sujeto que comprende administrar una cantidad eficaz de una proteína de unión a LOX1 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-22 o 33 o la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 34-37.

20

25

30