

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo anti-repetición de dipéptido (XX')
(DPR) monoclonal derivado de humano, o un
fragmento de unión a DPR, variante sintética o
derivado biotecnológico del mismo, el cual reconoce
una DPR tal como se traduce a partir del gen del
10 marco de lectura abierto 72 del cromosoma 9
(C9orf72) en su dirección antisentido (poli-(Pro-Arg;
PR), poli-(Pro-Ala; PA), poli-(Gly-Pro; GP)) una DPR
tal como se traduce a partir del gen de C9orf72 en su
dirección sentido (poli-(Gly-Arg; GR), poli-(Gly-Ala;
15 GA), poli-(Gly-Pro; GP)), donde los anticuerpos
reconocen
- (A) una DPR que comprende una GA repetida, que
comprende una cadena pesada variable (VH)
una cadena ligera variable (VL) las regiones
20 determinantes complementarias (CDRs) VH-
CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3 and VL-CDR1, VL-
CDR2 y VL-CDR3 seleccionadas de:
- (a) VH-CDR1: posiciones 32-36 de SEQ ID NO: 2,
VH-CDR2: posiciones 51-66 de SEQ ID NO: 2,

VH-CDR3: posiciones 99-112 de SEQ ID NO: 2,
VL-CDR1: posiciones 25-40 de SEQ ID NO: 4 o
SEQ ID NO: 6,
VL-CDR2: posiciones 56-62 de SEQ ID NO: 4 o
5 SEQ ID NO: 6, y
VL-CDR3: posiciones 95-102 de SEQ ID NO: 4
o SEQ ID NO: 6, para anticuerpos NI-308.18F7;
(b) VH-CDR1: posiciones 32-36 de SEQ ID NO: 8,
VH-CDR2: posiciones 51-67 de SEQ ID NO:
10 8,
VH-CDR3: posiciones 100-113 de SEQ ID
NO: 8,
VL-CDR1: posiciones 25-35 de SEQ ID NO: 10
o SEQ ID NO: 12,
15 VL-CDR2: positions 51-57 of SEQ ID NO: 10 o
SEQ ID NO: 12, y
VL-CDR3: posiciones 90-98 de SEQ ID NO: 10
o SEQ ID NO: 12, para anticuerpos NI-
308.15O7;
20 (c) VH-CDR1: posiciones 32-36 de SEQ ID NO: 22
o SEQ ID NO: 26,
VH-CDR2: posiciones 51-66 de SEQ ID NO:
22 o SEQ ID NO: 26,
VH-CDR3: posiciones 99-112 de SEQ ID
25 NO: 22 o SEQ ID NO: 26,

VL-CDR1: posiciones 25-40 de SEQ ID NO: 24
o SEQ ID NO: 28,

VL-CDR2: posiciones 56-62 de SEQ ID NO: 24
o SEQ ID NO: 28, y

5 VL-CDR3: posiciones 95-103 de SEQ ID NO: 24
o SEQ ID NO: 28, para anticuerpos NI-
308.28G1; y

(d) VH-CDR1: posiciones 32-38 de SEQ ID NO: 30
o SEQ ID NO: 34,

10 VH-CDR2: posiciones 53-70 de SEQ ID NO:
30 o SEQ ID NO: 34,

VH-CDR3: posiciones 103-118 de SEQ ID
NO: 30 o SEQ ID NO: 34,

15 VL-CDR1: posiciones 25-40 de SEQ ID NO: 32
o SEQ ID NO: 36,

VL-CDR2: positions 56-62 of SEQ ID NO: 32 o
SEQ ID NO: 36, y

20 VL-CDR3: posiciones 95-103 de SEQ ID NO: 32
o SEQ ID NO: 36, para anticuerpos NI-
308.45C2;

(B) una DPR que comprende un GP repetido, que
comprende en su cadena pesada variable (VH)
y cadena ligera variable (VL) regiones
determinantes complementarias (CDRs) VH-
25 CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3 y VL-CDR1, VL-

CDR2 y VL-CDR3 seleccionadas de:

(e) VH-CDR1: posiciones 32-36 de SEQ ID NO: 14

o SEQ ID NO: 18,

VH-CDR2: posiciones 51-67 de SEQ ID NO:

5 14 o SEQ ID NO: 18,

VH-CDR3: posiciones 100-113 of SEQ ID

NO: 14 o SEQ ID NO: 18,

VL-CDR1: posiciones 25-41 de SEQ ID NO: 16

o SEQ ID NO: 20,

10 VL-CDR2: posiciones 57-63 de SEQ ID NO: 16

o SEQ ID NO: 20, y

VL-CDR3: posiciones 96-104 de SEQ ID NO: 16

o SEQ ID NO: 20, para anticuerpos NI-308.5G2;

(f) VH-CDR1: posiciones 32-38 de SEQ ID NO: 44

15 o SEQ ID NO: 48,

VH-CDR2: posiciones 53-68 de SEQ ID NO:

44 o SEQ ID NO: 48,

VH-CDR3: posiciones 101-113 de SEQ ID

NO: 44 o SEQ ID NO: 48,

20 VL-CDR1: posiciones 25-35 de SEQ ID NO: 46

o SEQ ID NO: 50,

VL-CDR2: posiciones 51-57 de SEQ ID NO: 46

o SEQ ID NO: 50, y

VL-CDR3: posiciones 90-98 de SEQ ID NO: 46

25 o SEQ ID NO: 50, para anticuerpos NI-

308.46E9; y

(g) VH-CDR1: posiciones 32-36 de SEQ ID NO: 72
o SEQ ID NO: 76,

5 VH-CDR2: posiciones 51-67 de SEQ ID NO:
72 o SEQ ID NO: 76,

VH-CDR3: posiciones 100-116 de SEQ ID
NO: 72 o SEQ ID NO: 76,

VL-CDR1: posiciones 25-41 de SEQ ID NO: 74
o SEQ ID NO: 78,

10 VL-CDR2: posiciones 57-63 de SEQ ID NO: 74
o SEQ ID NO: 78, y

VL-CDR3: posiciones 96-104 de SEQ ID NO: 74
o SEQ ID NO: 78, para anticuerpos NI-
308.12A3;

15 (C) una DPR que comprende GR repetido, que
comprende en su cadena pesada variable (VH)y
cadena ligera variable(VL) las regiones
determinantes complementarias (CDRs) VH-
CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3 and VL-CDR1, VL-
20 CDR2 and VL-CDR3 seleccionadas de:

(h) VH-CDR1: posiciones 32-36 de SEQ ID NO: 52
o SEQ ID NO: 56,

VH-CDR2: posiciones 51-67 de SEQ ID NO:
52 o SEQ ID NO: 56,

25 VH-CDR3: posiciones 100-118 de SEQ ID

NO: 52 o SEQ ID NO: 56,
 VL-CDR1: posiciones 25-35 de SEQ ID NO: 54,
 VL-CDR2: posiciones 51-57 de SEQ ID NO: 54,
 y
 5 VL-CDR3: posiciones 90-98 de SEQ ID NO: 54,
 para anticuerpo NI-308.6B11; y

(i) VH-CDR1: posiciones 32-36 de SEQ ID NO: 58
 o SEQ ID NO: 62,
 VH-CDR2: posiciones 51-67 de SEQ ID NO:
 10 58 o SEQ ID NO: 62,
 VH-CDR3: posiciones 100-115 de SEQ ID
 NO: 58 o SEQ ID NO: 62,
 VL-CDR1: posiciones 24-36 de SEQ ID NO: 60,
 VL-CDR2: posiciones 52-58 de SEQ ID NO: 60,
 15 y
 VL-CDR3: posiciones 91-101 de SEQ ID NO:
 60, para anticuerpo NI-308.46F8;

(D) una DPR que comprende PR repetido, que
 comprende en su cadena variable pesada (VH)
 20 y cadena ligera variable (VL) la cadena de
 regiones determinantes complementaria (CDRs)
 VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3 and VL-CDR1,
 VL-CDR2 and VL-CDR3:

(j) VH-CDR1: posiciones 32-36 de SEQ ID NO: 38,
 25 VH-CDR2: posiciones 51-66 de SEQ ID NO:

38,

VH-CDR3: posiciones 99-116 de SEQ ID NO: 38,

5

VL-CDR1: posiciones 25-35 de SEQ ID NO: 40
o SEQ ID NO: 42,

VL-CDR2: posiciones 51-57 de SEQ ID NO: 40,
o SEQ ID NO: 42 y

10

VL-CDR3: posiciones 90-98 de SEQ ID NO: 40,
o SEQ ID NO: 42 para anticuerpos NI-308.24E11;

(E) una DPR que comprende PA repetido, que comprende una cadena pesada variable (VH) y una cadena ligera variable (VL) la cadena de regiones determinantes complementaria (CDRs) VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3 y VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3:

15

(k) VH-CDR1: posiciones 32-36 de SEQ ID NO: 64
o SEQ ID NO: 68,

20

VH-CDR2: posiciones 51-65 de SEQ ID NO: 64 o SEQ ID NO: 68,

VH-CDR3: posiciones 100-116 de SEQ ID NO: 64 o SEQ ID NO: 68,

VL-CDR1: posiciones 25-35 de SEQ ID NO: 66
o SEQ ID NO: 70,

25

VL-CDR2: posiciones 51-57 de SEQ ID NO: 66

o SEQ ID NO: 70, y

VL-CDR3: posiciones 90-99 de SEQ ID NO: 66

o SEQ ID NO: 70, para anticuerpos NI-308.4M1;

(F) una DPR que comprende PR repetido, que
comprende una cadena variable pesada (VH) y
una cadena ligera variable (VL) la cadena de
regiones determinantes complementaria (CDRs)
VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3 y VL-CDR1, VL-
CDR2 y VL-CDR3:

(I) VH-CDR1: posiciones 32-36 de SEQ ID NO: 80
o SEQ ID NO: 84,

VH-CDR2: posiciones 51-67 de SEQ ID NO:
80 o SEQ ID NO: 84,

VH-CDR3: posiciones 100-114 de SEQ ID
NO: 80 o SEQ ID NO: 84,

VL-CDR1: posiciones 25-36 de SEQ ID NO: 82
o SEQ ID NO: 86,

VL-CDR2: posiciones 52-58 de SEQ ID NO: 82
o SEQ ID NO: 86, y

VL-CDR3: posiciones 91-95 de SEQ ID NO: 82
o SEQ ID NO: 86, para anticuerpos NI-
308.16C10.

2. El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 1,
en donde el numero repetido es (XX')₁₅.

3. El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 1 ó 2, en donde la DPR está contenida en o está conjugada a una proteína (DPR-proteína), de preferencia en la cual la proteína es seroalbúmina de bovino (BSA) y está conjugada a la DPR.

4. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el anticuerpo es capaz de unirse a un péptido de DPR que consiste de (XX')₁₅, opcionalmente en el cual el anticuerpo no se une a una magnitud menor al péptido copulado con BSA.

5. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, el cual es capaz de unirse a las formas agregadas de la DPR y proteína de DPR, respectivamente.

6. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la DPR-proteína es C9ORF72-DPR.

20

7. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en donde el anticuerpo comprende en su región variable la secuencia de amino ácido de V_H y V_L región variable seleccionada de:

- (a) región variable V_H : SEQ ID NO: 2, y región variable V_L : SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 6 para un anticuerpo NI-308.18F7;
- 5 (b) región variable V_H : SEQ ID NO: 8, y
región variable V_L : SEQ ID NO: 10 o SEQ ID NO: 12
para un anticuerpo NI-308.15O7;
- 10 (c) región variable V_H : SEQ ID NO: 22 o SEQ ID NO: 26,
y
región variable V_L : SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 28
para un anticuerpo NI-308.28G1;
- (d) región variable V_H : SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 34,
y
región variable V_L : SEQ ID NO: 32 o SEQ ID NO: 36
para un anticuerpo NI-308.45C2;
- 15 (e) región variable V_H : SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 18,
y
región variable V_L : SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 20
para un anticuerpo NI-308.5G2;
- 20 (f) región variable V_H : SEQ ID NO: 44 o SEQ ID NO: 48,
y
región variable V_L : SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 50
para un anticuerpo NI-308.46E9;
- (g) región variable V_H : SEQ ID NO: 72 o SEQ ID NO: 76,
y
región variable V_L : SEQ ID NO: 74 o SEQ ID NO: 78
para un anticuerpo NI-308.12A3;
- 25 (h) región variable V_H : SEQ ID NO: 52 o SEQ ID NO: 56,
y
región variable V_L : SEQ ID NO: 54 para un anticuerpo
NI-308.6B11;
- 30 (i) región variable V_H : SEQ ID NO: 58 o SEQ ID NO: 62, y
región variable V_L : SEQ ID NO: 60 para un anticuerpo
NI-308.46F8;
- 35 (j) región variable V_H : SEQ ID NO: 38, y
región variable V_L : SEQ ID NO: 40 o SEQ ID NO: 42
para un anticuerpo NI-308.24E11;
- (k) región variable V_H : SEQ ID NO: 64 o SEQ ID NO: 68,
y

región variable V_L : SEQ ID NO: 66 o SEQ ID NO: 70
para un anticuerpo NI-308.4M1; y
(I) región variable V_H : SEQ ID NO: 80 o SEQ ID NO: 84,
y
5 región variable V_L : SEQ ID NO: 82 o SEQ ID NO: 86
para un anticuerpo NI-308.16C10.

8. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 7 en donde la secuencia de polipéptido de
10 una región V_H o V_L además comprende un dominio constante de
humano, de preferencia del tipo IgG, de manera más preferida
de la clase o isotipo IgG1.

9. El anticuerpo de la reivindicación 1(B), el cual
15 también es capaz de unirse a una repetición de poli-GA, de
preferencia en donde el anticuerpo es un anticuerpo NI-
308.5G2.

10. El anticuerpo de la reivindicación 1 (C), el cual
20 también es capaz de unirse a una repetición de poli-GA, de
preferencia en el cual el anticuerpo es NI-308.6B11.

11. El anticuerpo de la reivindicación 1(C) o 9, el cual
también es capaz de unirse a una repetición de poli-PR, de
25 preferencia en el cual el anticuerpo es el anticuerpo NI-
308.6B11.

12. El anticuerpo de la reivindicación 1(E), el cual también es capaz de unirse a una repetición de poli-GA, de preferencia en el cual el anticuerpo es el anticuerpo NI-308.4M1.

5

13. El anticuerpo de la reivindicación 1(F), el cual también es capaz de unirse a una repetición de poli-GA, de preferencia en el cual el anticuerpo es el anticuerpo NI-308.16C10.

10

14. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, el cual selectivamente o de manera preferencial se une al péptido de DPR no copulado.

15

15. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, el cual se une a la DPR solamente si el número de repeticiones n es ≥ 6 , de preferencia ≥ 10 , de manera más preferida ≥ 15 .

20

16. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 el cual es capaz de unirse a DPR no copulada y copulada con BSA con afinidad sustancialmente igual o dentro del mismo orden de magnitud, de preferencia en el cual el valor de CE_{50} (mitad de la concentración efectiva máxima)

25

para unirse a la DPR no copulada y la DPR copulada a BSA

difiere en no más de un factor de ≤ 20 , de preferencia ≤ 15 , de manera más preferida ≤ 10 , de manera incluso más preferida ≤ 5 , y más preferido aún no más de aproximadamente ≤ 2 ó 3 según se determina mediante ELISA indirecta, en el cual el
5 número de repetición n es 15.

17. El anticuerpo anti-DPR de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 el cual es capaz de unirse a dos o más DPR diferentes con afinidad sustancialmente igual o dentro
10 del mismo orden de magnitud, de preferencia en el cual el valor de CE_{50} para unión a cualquiera de las DPR es ≤ 200 nM, de preferencia ≤ 150 nM, de manera más preferida ≤ 100 nM, de manera incluso más preferida ≤ 50 nM y más preferido aún ≤ 25 nM para unirse a DPR $_n$ o proteína de DPR $_n$ según se determina
15 mediante ELISA indirecta, en el cual el número de repetición n es 15.

18. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, el cual tiene una afinidad de unión a
20 una DPR $_n$ o proteína de DPR $_n$ correspondiente a un valor de CE_{50} (mitad de la concentración efectiva máxima) de ≤ 25 nM, de preferencia ≤ 2 nM, de manera más preferida ≤ 1 nM y más preferido aún ≤ 0.5 nM según se determina mediante ELISA indirecta, en el cual el número de repetición n es 15.

19. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 el cual es un anticuerpo quimérico de murino-humano o un anticuerpo murinizado.

5 20. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, el cual se selecciona a partir del grupo que consiste de un fragmento Fv de cadena individual (scFv), un fragmento F(ab'), un fragmento F(ab), y un fragmento F(ab')₂.

10 21. Un polinucleótido que codifica la unión o la región variable de una cadena de inmunoglobulina del anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, en donde el polinucleótido es un ADNc seleccionado de:

- 15 (a) región variable V_H: SEQ ID NO: 1,
 región variable V_L: SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 5
 para un anticuerpo NI-308.18F7;
- (b) región variable V_H: SEQ ID NO: 7,
 región variable V_L: SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 11
 para un anticuerpo NI-308.15O7;
- 20 (c) región variable V_H: SEQ ID NO: 21 o SEQ ID NO: 25,
 región variable V_L: SEQ ID NO: 23 o SEQ ID NO: 27
 para un anticuerpo NI-308.28G1;
- (d) región variable V_H: SEQ ID NO: 29 o SEQ ID NO: 33,
 región variable V_L: SEQ ID NO: 31 o SEQ ID NO: 35
25 para un anticuerpo NI-308.45C2;
- (e) región variable V_H: SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 17,
 región variable V_L: SEQ ID NO: 15 o SEQ ID NO: 19
 para un anticuerpo NI-308.5G2;
- 30 (f) región variable V_H: SEQ ID NO: 43 o SEQ ID NO: 47,
 región variable V_L: SEQ ID NO: 45 o SEQ ID NO: 49
 para un anticuerpo NI-308.46E9;

- (g) región variable V_H : SEQ ID NO: 71 o SEQ ID NO: 75, región variable V_L : SEQ ID NO: 73 o SEQ ID NO: 77 para un anticuerpo NI-308.12A3;
- 5 (h) región variable V_H : SEQ ID NO: 51 or SEQ ID NO: 55, región variable V_L : SEQ ID NO: 53 para un anticuerpo NI-308.6B11;
- (i) región variable V_H : SEQ ID NO: 57 o SEQ ID NO: 61, región variable V_L : SEQ ID NO: 59 para un anticuerpo NI-308.46F8;
- 10 (j) región variable V_H : SEQ ID NO: 37, región variable V_L : SEQ ID NO: 39 o SEQ ID NO: 41 para un anticuerpo NI-308.24E11;
- (k) región variable V_H : SEQ ID NO: 63 o SEQ ID NO: 67, región variable V_L : SEQ ID NO: 65 o SEQ ID NO: 69 para un anticuerpo NI-308.4M1; y
- 15 (l) región variable V_H : SEQ ID NO: 79 o SEQ ID NO: 83, región variable V_L : SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85 para un anticuerpo NI-308.16C10.

20 22. Un vector que comprende el polinucleótido de conformidad con la reivindicación 21, opcionalmente en combinación con un polinucleótido de conformidad con la reivindicación 21 que codifica para la región variable de la otra cadena de inmunoglobulina de dicha molécula de unión.

25

23. Una célula hospedera que comprende un polinucleótido de conformidad con la reivindicación 21 o un vector de conformidad con la reivindicación 22, en donde la célula huésped es seleccionada del grupo de CHO (Ovario de Hámster Chino), DG44 y DUXB11 (Líneas del ovario de Hámster Chino, DHFR minus), HELA (carcinoma cervical de humano), CVI (línea de riñón de

30

mico), COS (un derivado de CVI con antígeno SV40 T), VERY, BHK (riñón de bebe de un Hámster), MDCK, WI38, R1610 (fibroblastos de hámster Chino) BALBC/3T3 (fibroblastos de mico), HAK (línea de riñón de hámster), SP2/O (mieloma de ratón), P3x63-Ag3.653 (mieloma de ratón), BFA-1c1BPT (células endoteliales de bovino), RAJI (linfocitos humanos), 293 (riñón humano) and NSO.

24. Un método para preparar un anticuerpo anti-DPR o un derivado biotecnológico o cadena(s) de inmunoglobulina del mismo, dicho método comprende

(a) cultivar la célula de conformidad con la reivindicación 23; y

(b) aislar el anticuerpo o cadena(s) de inmunoglobulina del mismo a partir del cultivo.

15

25. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, el cual está marcado de manera detectable.

20

26. El anticuerpo de conformidad con la reivindicación 25, en donde la marca detectable se selecciona a partir del grupo que consiste de una enzima, un radioisótopo, un fluoróforo, y un metal pesado.

25

27. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las

reivindicaciones 1 a 20, el cual está unido a un fármaco.

28. Una composición que comprende el anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 ó 25
5 a 27, el polinucleótido de conformidad con la reivindicación 21, el vector de conformidad con la reivindicación 22 o la célula de conformidad con la reivindicación 23.

29. La composición de conformidad con la reivindicación
10 28, la cual es una composición farmacéutica y comprende también un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30. La composición de conformidad con la reivindicación
15 29, la cual es una vacuna.

31. Un método para preparar la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 28 a 30, en donde el método comprende:

(a) cultivar la célula de conformidad con la reivindicación
20 23;

(b) purificar el anticuerpo, derivado biotecnológico o cadena(s) de inmunoglobulina del mismo a partir del cultivo hasta grado farmacéutico; y

(c) mezclar íntimamente el anticuerpo o derivado
25 biotecnológico del mismo con un vehículo farmacéuticamente

aceptable.

32. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 28 ó 29 que comprende también un agente
5 adicional útil para tratar enfermedades o síntomas asociadas con proteínas de DPR agregadas, por ejemplo C9ORF72-DPR.

33. La composición de conformidad con la reivindicación 32, la cual es una composición de diagnóstico.
10

34. La composición de diagnóstico de conformidad con la reivindicación 33 la cual comprende reactivos convencionalmente utilizados en métodos de diagnóstico inmuno-basados o basados en ácido nucleico.
15

35. Un método para diagnosticar trastornos asociados con proteína de DPR, que comprende los pasos de determinar la presencia de un anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 ó 25 a 27 en una muestra biológica
20 de dicho individuo.