

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo anti-repetición de dipéptido (XX') (DPR) monoclonal derivado de humano, o un fragmento de unión a DPR del mismo, el cual reconoce una DPR tal como se traduce a partir del gen del 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
10 gen de C9orf72 en su dirección sentido (poli-(Gly-Arg; GR), poli-(Gly-Ala; GA), poli-(Gly-Pro; GP)), donde los anticuerpos reconocen
- (A) una DPR que comprende una GA repetida y que comprende una cadena pesada variable (VH) una cadena ligera variable (VL) las regiones determinantes complementarias (CDRs) VH-CDR1, VH-
15 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,
20 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 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;
25
- (b) VH-CDR1: posiciones 32-36 de SEQ ID NO: 8,
VH-CDR2: posiciones 51-67 de SEQ ID NO: 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,
30 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;
- (c) VH-CDR1: posiciones 32-36 de SEQ ID NO: 22 o SEQ ID NO: 26,
- 5 VH-CDR2: posiciones 51-66 de SEQ ID NO: 22 o SEQ ID NO: 26,
- VH-CDR3: posiciones 99-112 de SEQ ID NO: 22 o SEQ ID NO: 26,
- 10 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
- VL-CDR3: posiciones 95-103 de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 28, para anticuerpos NI-308.28G1; y
- 15 (d) VH-CDR1: posiciones 32-38 de SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 34,
- VH-CDR2: posiciones 53-70 de SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 34,
- 20 VH-CDR3: posiciones 103-118 de SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 34,
- 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
- 25 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, y que comprende en su cadena pesada variable (VH) y cadena ligera variable (VL) regiones determinantes complementarias (CDRs) VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3 y VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 seleccionadas de:
- 30 (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: 14 o SEQ ID NO: 18,
- VH-CDR3: posiciones 100-113 of SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 18,
- 5 VL-CDR1: posiciones 25-41 de SEQ ID NO: 16 o SEQ ID NO: 20,
- 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;
- 10 (f) VH-CDR1: posiciones 32-38 de SEQ ID NO: 44 o SEQ ID NO: 48,
- VH-CDR2: posiciones 53-68 de SEQ ID NO: 44 o SEQ ID NO: 48,
- 15 VH-CDR3: posiciones 101-113 de SEQ ID NO: 44 o SEQ ID NO: 48,
- 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
- 20 VL-CDR3: posiciones 90-98 de SEQ ID NO: 46 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,
- 25 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,
- 30 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;

- 5 (C) una DPR que comprende GR repetido, y 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-CDR2 and VL-CDR3 seleccionadas de:
- 10 (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,
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
15 VL-CDR3: posiciones 90-98 de SEQ ID NO: 54, para anticuerpo NI-308.6B11; y
- 20 (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: 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, y
25 VL-CDR3: posiciones 91-101 de SEQ ID NO: 60, para anticuerpo NI-308.46F8;
- 30 (D) una DPR que comprende PR repetido, y que comprende en su cadena variable pesada (VH) 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,
VH-CDR2: posiciones 51-66 de SEQ ID NO: 38,

- VH-CDR3: posiciones 99-116 de SEQ ID NO: 38,
 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
 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, y 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:
- (k) VH-CDR1: posiciones 32-36 de SEQ ID NO: 64 o SEQ ID NO: 68,
 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,
 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, y 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:
- (l) 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,

- 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.
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 acido de V_H y V_L región variable seleccionada de:
- (a) región variable V_H: SEQ ID NO: 2,

- región variable V_L : SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 6 para un anticuerpo NI-308.18F7;
- (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;
- 5 (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
10 región variable V_L : SEQ ID NO: 32 o SEQ ID NO: 36 para un anticuerpo NI-308.45C2;
- (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;
- 15 (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;
- 20 (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;
- (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;
- 25 (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
- 30 (l) región variable V_H : SEQ ID NO: 80 o SEQ ID NO: 84, y

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 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 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 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 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.
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.
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. 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 .
- 5 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) para unirse a la DPR no copulada y la DPR copulada a BSA difiere en no más de un factor de ≤ 20 , de
10 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 número de repetición n es 15.
- 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 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
20 DPR_n según se determina mediante ELISA indirecta, en el cual el número de repetición n es 15.
- 25 18. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, el cual tiene una afinidad de unión a 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.
- 30 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.

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.

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:

- 10 (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;
- 15 (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 para un anticuerpo NI-308.45C2;
- 20 (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;
- 25 (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;
- 30 (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;
- (j) región variable V_H : SEQ ID NO: 37,
región variable V_L : SEQ ID NO: 39 o SEQ ID NO: 41 para un
5 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
- (l) región variable V_H : SEQ ID NO: 79 o SEQ ID NO: 83,
10 región variable V_L : SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85 para un
anticuerpo NI-308.16C10.

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

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
20 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 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
25 (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
30 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.

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

5

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.

10 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 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.

15

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

20

30. Un método para preparar la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 28 a 29, en donde el método comprende:

- (a) cultivar la célula de conformidad con la reivindicación 23;
- 25 (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 biotecnológico del mismo con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30