

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que comprende un primer polipéptido y un segundo polipéptido, el compuesto se une a una primera proteína objetivo y a una segunda proteína objetivo, en donde cualquiera de dicha primera proteína objetivo es BAFF y dicha segunda proteína objetivo es IL-23A o dicha primera proteína objetivo es IL-23A y dicha segunda proteína objetivo es BAFF, y además en donde:
- (A) dicho primer polipéptido comprende:
- (i) un dominio variable de cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína objetivo;
 - (ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína objetivo; y
 - (iii) una región bisagra, una región constante de cadena pesada 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y
- (B) dicho segundo polipéptido comprende:
- (i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína objetivo;
 - (ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína objetivo;
- donde:
- a) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha primera proteína objetivo;
 - b) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha segunda proteína objetivo; y
- dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y un ácido glutámico en la posición 256, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat; y donde:
- dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:91 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:90; y
- donde además dicho primer polipéptido comprende además un primer enlazador peptídico entre dicho VL1 y dicho VH2 y dicho segundo polipéptido comprende además un segundo enlazador peptídico entre dicho VL2 y dicho VH1, dicho segundo polipéptido comprende además un dominio de región constante de cadena ligera (CL), donde dicha CL y dicha CH1 se asocian entre sí mediante un enlace disulfuro para formar un dominio CL, y dicho primer polipéptido comprende

además un tercer enlazador peptídico entre dicho VH2 y dicha CH1 y dicho segundo polipéptido comprende además un cuarto enlazador peptídico entre dicho VH1 y dicha CL.

- 5 2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho primer enlazador peptídico o dicho segundo enlazador peptídico comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69).
- 10 3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho primer enlazador peptídico y dicho segundo enlazador peptídico comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69).
- 15 4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho tercer enlazador peptídico o dicho cuarto enlazador peptídico comprende la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70).
- 20 5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho tercer enlazador peptídico y dicho cuarto enlazador peptídico comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70).
- 25 6. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en las posiciones 234 y una alanina en la posición 235, numeradas de acuerdo con el índice EU tal como en Kabat.
- 30 7. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la secuencia de aminoácidos de dicha región bisagra, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) o dicha región constante de cadena pesada 3 (CH3) se obtiene a partir de un IgG1 o de un IgG4.
- 35 8. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicha región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76), la secuencia de aminoácidos LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130) o la secuencia de aminoácidos ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134).
9. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicho compuesto comprende dos de dichos primeros polipéptidos y dos

de dichos segundos polipéptidos, donde dichos dos primeros polipéptidos están unidos covalentemente, en donde dicha unión covalente comprende un enlace disulfuro.

5 10. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde

(i) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

10 (ii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o

(iii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

15 (iv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52;

20 donde dicho compuesto comprende dos de dichos primeros polipéptidos y dos de dichos segundos polipéptidos, los dichos dos primeros polipéptidos están unidos covalentemente entre sí, en donde la unión covalente comprende un enlace disulfuro y cada uno de dichos primeros polipéptidos está unido covalentemente a uno de dichos segundos polipéptidos, en donde dicha unión covalente comprende un enlace disulfuro.

25 11. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 10, donde dicho compuesto comprende dos de dichos primeros polipéptidos y dos de dichos segundos polipéptidos, donde cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende una CH1, bisagra, una CH2 y una CH3 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende una CL y donde la bisagra, la CH2 y la CH3 de uno de los primeros polipéptidos se asocia a la bisagra, CH2 y la CH3 del otro de los primeros polipéptidos y la CH1 de cada dichos primeros polipéptidos se asocia a la CL de uno de dichos segundos polipéptidos para formar una molécula tetravalente.

35 12. Un compuesto que comprende dos primeros polipéptidos y dos segundos polipéptidos; donde dichos dos primeros polipéptidos están unidos covalentemente entre sí, en el que dicha unión covalente comprende un enlace disulfuro y donde además cada uno de dichos primeros polipéptidos

está unido covalentemente a uno de dichos segundos polipéptidos, en donde dicha unión covalente comprende un enlace disulfuro; el compuesto se une específicamente a una primera proteína objetivo y a una segunda proteína objetivo, en donde cualquiera de dicha primera proteína objetivo es BAFF y dicha segunda proteína objetivo es IL-23A o dicha primera proteína objetivo es IL-23A y dicha segunda proteína objetivo es BAFF,

donde cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende:

- (i) un dominio variable de cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína objetivo;
- (ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína objetivo;
- (iii) una región constante de cadena pesada 1 (CH1), una región bisagra, una región constante de cadena pesada 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y

donde cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende:

- (i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína objetivo;
- (ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína objetivo;
- (iii) un dominio de región constante de cadena ligera (CL);

donde la bisagra, la CH2 y la CH3 de uno de los primeros polipéptidos se asocia con la bisagra, CH2 y CH3 del otro de los primeros polipéptidos y la CH1 de cada uno de dichos primeros polipéptidos se asocia con el CL de dichos segundos polipéptidos para formar una molécula tetravalente;

donde

- a) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha primera proteína objetivo;
- b) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha segunda proteína objetivo; y

dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y un ácido glutámico en la posición 256, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat; y donde:

dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:91 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:90.

13. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, donde cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende además un primer enlazador peptídico entre

dicho VL1 y dicho VH2 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende además un segundo enlazador peptídico entre dicho VL2 y dicho VH1.

- 5 14.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, donde dicho primer enlazador peptídico o dicho segundo enlazador peptídico comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69).
- 10 15.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, donde dicho primer enlazador peptídico y dicho segundo enlazador peptídico comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69).
- 15 16.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, donde cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende además un tercer enlazador peptídico entre dicho VH2 y dicha CH1 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende además un cuarto enlazador peptídico entre dicho VH1 y dicha CL.
- 20 17.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 16, donde dicho tercer enlazador peptídico o dicho cuarto enlazador peptídico comprende la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70).
- 25 18.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 16, donde dicho tercer enlazador peptídico y dicho cuarto enlazador peptídico comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70).
- 30 19.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, donde dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en las posiciones 234 y una alanina en la posición 235, numeradas de acuerdo con el índice EU tal como en Kabat.
- 35 20.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, donde la secuencia de aminoácidos de dicha región bisagra, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) o dicha región constante de cadena pesada 3 (CH3) se obtiene a partir de un IgG1 o de un IgG4.
- 21.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, donde dicha región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID

NO:76), la secuencia de aminoácidos LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130) o la secuencia de aminoácidos ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134).

22.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, donde

- 5 (i) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46;
o
- 10 (ii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48;
o
- 15 (iii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50;
o
- (iv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52.

20

23.Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22.

24.Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22.

25

25.Un vector que comprende un ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 24.

30

26.El vector de acuerdo con la reivindicación 25, que comprende además un promotor unido de manera operativa a dicho ácido nucleico.

27.Una célula recombinante que comprende un ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 24 o un vector de acuerdo con la reivindicación 25 o 26, en donde dicha célula recombinante expresa un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22.

35

28.Un método *in vitro* para producir un polipéptido de acuerdo con cualquiera de

las reivindicaciones 1 a 22 que comprende obtener una célula recombinante de acuerdo con la reivindicación 27, cultivar dicha célula recombinante bajo condiciones que permitan la expresión de dicho ácido nucleico en dicha célula recombinante y aislar dicho polipéptido.

5

29.El método de acuerdo con la reivindicación 28, que comprende además purificar dicho polipéptido aislado.

10

30.La célula recombinante de acuerdo con la reivindicación 27, la cual es seleccionada de célula bacteriana, de levadura, de mamífero y de insecto.

31.La célula recombinante de acuerdo con la reivindicación 27, la cual es una célula CHO.

COMPUESTO QUE SE DIRIGE A IL-23A Y AL FACTOR DE ACTIVACIÓN DE
LINFOCITOS B (BAFF)

SOLICITUD RELACIONADA

5

La presente solicitud reivindica el beneficio de la fecha de presentación según el párrafo 119 del título 35 del USC de las solicitudes provisionales estadounidenses número de serie 62/196,170, presentada el 23 de julio de 2015; n° de serie 10 62/201,067, presentada el 4 de agosto de 2015; y el n° de serie 62/355,302, presentada el 27 de junio, 2016, todas tituladas COMPOUND TARGETING IL-23A AND B-CELL ACTIVATING FACTOR (BAFF) AND USES THEREOF, contenidos de las cuales se incorporan mediante referencia a la presente en su totalidad.

15

ANTECEDENTES

La inflamación implica una respuesta inmunitaria innata y adaptable que es necesaria para combatir la infección. Sin embargo, cuando la inflamación se vuelve una enfermedad 20 autoinflamatoria o autoinmunitaria desenfrenada, puede desarrollarse una enfermedad neurodegenerativa e incluso

cáncer. Se conoce que las citosinas proinflamatorias tales como IL1, BAFF, TNF-alfa, IL6, IL12, IL17, IL18 e IL23 se ven implicadas en la inflamación y las vías específicas que activan células inmunitarias. Sin embargo, no está claro si o cómo la
5 inhibición de una o más de estas citosinas podría tener como resultado el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias o autoinflamatorias.

La interleucina 23 (IL23) es una citosina heterodimérica que
10 consiste en dos subunidades, p40 y p19. También se hace referencia a la subunidad p19 como IL-23A. Mientras que la subunidad p19 es única de IL23, la subunidad p40 se comparte con la citosina IL12. IL23 surge actualmente como un regulador clave de las células linfoides innatas (ILC, por sus siglas en
15 inglés), Th17, $\gamma\delta$ T patogénicas que provocan la producción de IL17, IL22 y otras citosinas que provocan daño e inflamación del tejido local. IL23 promueve la regulación por aumento de la metaloproteinasa de la matriz MMP9, aumenta la angiogénesis, reduce la infiltración de linfocitos T CD8+ y ha estado
20 implicada en el desarrollo de tumores cancerosos. Además, junto con IL6 y TGF β 1, IL23 estimula linfocitos T CD4+ sin tratamiento para diferenciarse en linfocitos Th17. A su vez, los linfocitos Th17 producen IL17, una citosina proinflamatoria que potencia el cebado de linfocitos T y estimula la producción

de citosinas proinflamatorias tales como IL1, IL6, TNF-alfa, NOS-2, y también inducen la expresión de quimiosinas que provocan inflamación y la patogénesis de la enfermedad. IL23 ejerce sus efectos mediante un receptor de la superficie celular compuesto de la subunidad IL12 β 1 del receptor de IL12 emparejado con una única subunidad IL23R. La expresión de IL23R se restringe a poblaciones específicas de células inmunitarias y se encuentra principalmente en subconjuntos de linfocitos T (TCR+ $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$) y linfocitos NK.

10

En ratones, la ablación genética del gen IL23p19 provoca la pérdida selectiva de la función de IL23 acompañada por respuestas inmunitarias dependientes de T seriamente comprometidas, que incluyen una producción reducida de inmunoglobulinas específicas del antígeno y respuestas de hipersensibilidad de tipo retardadas disminuidas (Ghilardi N, et ál. (2004) J. Immunol. 172(5): 2827-33). Los ratones inactivados con deficiencia de IL23p40 o IL23p19, o en cualquiera de las subunidades del receptor de IL23 (IL23R e IL12 β 1), desarrollan síntomas menos graves en los modelos animales de esclerosis múltiple, artritis y enfermedad inflamatoria intestinal. Se han obtenido resultados similares mediante el uso de un anticuerpo específico para IL23p19 en EAE y un modelo de colitis mediado por linfocitos T confirma

20

además la función de IL23 en estas configuraciones de enfermedad (Chen Y. et ál. (2006) J. Clin. Invet. 116(5):1317-26; Elson CO. et ál. (2007) Gastroenterology 132(7): 2359-70). Esto resalta la importancia de IL23 en la inflamación crónica

5 (Langowski et ál. (2006) Nature 442 (7101): 461-5; Kikly K, et ál. (2006) Curr. Opin. Immunol. 18 (6): 670-5). Además, la producción elevada de IL23 ha estado implicada como un factor principal en la artritis inflamatoria y en las enfermedades autoinmunitarias inflamatorias (Adamopoulos et ál. (2011) J.

10 Immunol. 187: 593-594; y Langris et ál. (2005) J. Exp. Med. 201:233-240). Se ha publicado una conexión entre IL23, su citosina corriente abajo IL22 y la formación ósea en un sistema de modelos de ratón en el cual se sobreexpresa IL23 (Sherlock et ál. (2012) Nat. Med. 18: 1069-76).

15

El factor de activación de linfocitos B (BAFF, por sus siglas en inglés) es una citosina que pertenece a la superfamilia del ligando del factor de necrosis tumoral (TNF, por sus siglas en inglés) y actúa como el ligando para los receptores BAFF-R

20 (BR3), TACI (activador transmembrana y modulador de calcio e interactor del ligando de ciclofilina) y BCMA (antígeno de maduración de linfocitos B). La interacción entre BAFF y sus receptores activa las señales esenciales para la formación y mantenimiento de los linfocitos B, que, a su vez, sintetizan

inmunoglobulinas en respuesta a la invasión por parte de la sustancia foránea. Los niveles adecuados de BAFF en un paciente ayudan a mantener niveles normales de inmunidad mientras que niveles inadecuados pueden conducir a una inmunodeficiencia y niveles excesivos pueden tener como resultados una producción de anticuerpos anómalamente alta. Cuando un paciente exhibe autoinmunidad, produce anticuerpos contra los tejidos u órganos de su propio cuerpo. Las enfermedades autoinmunitarias, que incluyen lupus eritematoso y artritis reumatoide, tienen como resultado niveles excesivos de BAFF en el cuerpo. Por lo tanto, es importante modular la producción de BAFF con el fin de tratar a los pacientes que tienen estas enfermedades.

El BAFF puede existir en tres formas: unido a la membrana (mbBAFF), BAFF trimérico soluble (sBAFF) y una forma multimérica que consiste en 60 monómeros de BAFF (BAFF 60mer). La importancia relativa de las diversas formas de BAFF en una fisiología normal y de enfermedad no se entiende totalmente. Como se observó, el BAFF se une a tres receptores, BAFFR (BR3), TACI y BCMA. Un ligando de inducción de la proliferación (APRIL), un miembro relacionado de la familia del ligando receptor del TNF, mostró unirse con gran afinidad al TACI y BCMA. En contraste con la interacción APRIL:BCMA de gran afinidad, la interacción BAFF:BCMA tiene baja afinidad (1-2

μM) y no se cree que juegue un papel importante in vivo (Bossen y Schneider, 2006).

El BAFF soluble se expresa a niveles altos en individuos con
5 lupus eritematoso sistémico (SLE, por sus siglas en inglés) y
órganos objetivos inflamados tales como el riñón. El BAFF
soluble sirve como un factor crítico para la homeostasis y
supervivencia de linfocitos B (Kalled et ál., 2005; Mackay et
al., 2003; Smith and Cancro, 2003; Patke et ál., 2004). La
10 formación de anticuerpos por parte de los linfocitos B
dependientes de BAFF tiene como resultado los depósitos de IC
glomerulares, inicialmente en la membrana basal glomerular
(GBM, por sus siglas en inglés), tejido del mesangio e
intersticial dentro de las células epiteliales tubulares
15 proximales (PTEC, por sus siglas en inglés) Estos depósitos de
IC conducen a una fijación del complemento y activación de
neutrófilos que tiene como resultado un daño renal local. Los
mediadores inflamatorios (por ejemplo, IL6, IL8, MCP-1)
producidos por las células renales dañadas (MC, PTEC,
20 fibroblastos renales, células endoteliales) alimentan un ciclo
inflamatorio mediante el aumento en la infiltración de células
inmunitarias (por ejemplo, linfocitos B, linfocitos T, células
dendítricas, neutrófilos y macrófagos).

El anticuerpo monoclonal anti-BAFF belimumab (Benlysta®) tiene la capacidad demostrada de disminuir la formación de autoanticuerpos y brinda un beneficio significativo a los pacientes con lupus eritematoso sistémicos (SLE). Sin embargo, la eficacia de belimumab en pacientes con SLE es moderada como mucho y existe sustancialmente mucho para mejorar (Furie et ál., 2011). Por lo tanto, aún existe una necesidad de nuevas composiciones con una mayor eficacia para tratar y prevenir enfermedades autoinmunitarias o inflamatorias. Adicionalmente, la identificación de tratamientos más eficaces debería permitir la administración de dosificaciones reducidas, así como costos más bajos asociados al tratamiento.

COMPENDIO

15

En la presente se proporcionan compuestos específicos para BAFF e IL23, composiciones que comprenden dichos compuestos, así como también métodos para utilizarlos y producirlos.

20 Los aspectos de la descripción se refieren a un compuesto que comprende un primer polipéptido y un segundo polipéptido donde:

(A) dicho primer polipéptido comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína objetivo;

5 (ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína objetivo; y

(iii) una región bisagra, una región constante de cadena pesada
10 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y

(B) dicho segundo polipéptido comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda
15 inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína objetivo;

(ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera
inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína
20 objetivo;

donde:

a) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión

que se une a dicha primera proteína objetivo;

b) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha segunda proteína objetivo;

5

c) dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y un ácido glutámico en la posición 256, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat; y

10

d) dicha primera proteína objetivo es BAFF y dicha segunda proteína objetivo es IL-23A o dicha primera proteína objetivo es IL-23A y dicha segunda proteína objetivo BAFF,

15 y donde:

(i) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:2, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:1, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

20

(ii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:2 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:1; o

(iii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:85, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:84, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:4; o

5 (iv) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:85 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:84; o

(v) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:87, dicho VH1 comprende
10 la SEQ ID NO:86, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

(vi) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:87 y dicho
15 VH2 comprende la SEQ ID NO:86; o

(vii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:89, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:88, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

20

(viii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:89 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:88; o

(xi) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:91, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:90, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

- 5 (x) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:91 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:90.

En algunas modalidades, dicho primer polipéptido comprende
 10 además un primer enlazador entre dicho VL1 y dicho VH2 y dicho segundo polipéptido comprende además un segundo enlazador entre dicho VL2 y dicho VH1. En algunas modalidades, dicho primer enlazador o dicho segundo enlazador comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades,
 15 dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer polipéptido comprende además un tercer enlazador entre dicho VH2 o dicho VL1 y dicha región bisagra, y dicho segundo polipéptido además comprende un cuarto
 20 enlazador luego de dicho VH1 (en su extremo C) o dicho VL2 (en su extremo C). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) y dicho cuarto enlazador de dicho segundo polipéptido comprende

la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En otras modalidades, dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83) y dicho cuarto enlazador de dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) o la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En otras modalidades, dicho cuarto enlazador de dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) o la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador comprende la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72) o la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71). En algunas modalidades, dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71) o la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador comprende la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72) y dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71)

En algunas modalidades, dicho primer polipéptido comprende además un dominio de región constante de cadena pesada 1 (CH1) entre dicho VH2 o dicho VL1 (dependiendo de la configuración) y la región bisagra y dicho segundo polipéptido además
5 comprende un dominio de región constante de cadena ligera (CL) en el extremo C de dicho VH1 o VL2 (dependiendo de la configuración), donde dicho CL y dicho CH1 se asocian mediante un enlace disulfuro para formar un dominio C1. En algunas modalidades, dicho primer enlazador (entre dicho VL1 y dicho
10 VH2) o dicho segundo enlazador (entre dicho VL2 y dicho VH1) comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer polipéptido
15 comprende además un tercer enlazador entre dicho VH2 o dicho VL1 (dependiendo de la configuración) y dicho CH1, y dicho segundo polipéptido comprende además un cuarto enlazador entre dicho VH1 o dicho VL2 (dependiendo de la configuración) y dicho CL. En algunas modalidades, dicho tercer enlazador o dicho
20 cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70) En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70) En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprende un residuo de

cisteína opcional. En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGCGGG (SEQ ID NO:135) o LGGCGGGS (SEQ ID NO:136).

5

En algunas modalidades, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat para un anticuerpo convencional.

10

En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de dicha región bisagra, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) o dicha región constante de cadena pesada 3 (CH3) se obtiene a partir de IgG1 o de IgG4. En algunas modalidades, dicha región

15 bisagra comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76). La región bisagra de la SEQ ID NO:76 se encuentra en, por ejemplo, el polipéptido de la SEQ ID NO:5.

En otras modalidades, la región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130). La región

20 bisagra de la SEQ ID NO:130 se encuentra en, por ejemplo, el polipéptido de la SEQ ID NO:9. En aun otras modalidades, la región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134). La región bisagra de la SEQ ID NO:134 se encuentra en, por ejemplo, el polipéptido de la SEQ

ID NO:13.

En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, donde
5 dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro. En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, donde dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace
10 disulfuro y donde cada uno de dicho primer polipéptido se asocia a uno de dicho segundo polipéptido mediante al menos un enlace disulfuro.

En algunas modalidades,

15

- (i) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o
- 20 (ii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; o
- (iii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:9 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; o

(iv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:11 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; o

(v) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:13 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14; o

(vi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:15 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:16; o

15

(vii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:17 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; o

20 (viii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:19 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20; o

(ix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:21 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22; o

(x) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:23 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24; o

(xi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:25 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26; o

(xii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:27 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28; o

15

(xiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:29 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; o

20 (xiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:31 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; o

(xv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:33 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

(xvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:35 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; o

(xvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:37 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38; o

(xviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:39 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; o

15

(xix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:41 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

20 (xx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:43 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44; o

(xxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:45 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

(xxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:47 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o

(xxiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:49 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

(xxiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:51 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; o

15

(xxv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:53 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

20 (xxvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:55 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

(xxvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:57 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

(xxviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

(xxix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

(xxx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

(xxxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

(xxxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho

primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, donde dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro.

5 En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, y donde la bisagra, la CH2 y CH3, de uno de los primeros polipéptidos se asocia con la bisagra, CH2 y CH3, del otro de los primeros polipéptidos para formar una molécula tetravalente. En algunas
10 modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, donde cada uno de dicho primer polipéptido comprende una CH1, una bisagra, una CH2 y una CH3 y cada uno de dicho segundo polipéptido comprende una CL y donde la bisagra, la CH2 y la CH3 de uno
15 del primer polipéptido se asocia a la bisagra, la CH2 y la CH3 del otro del primer polipéptido y la CH1 de cada primer polipéptido se asocia a la CL de dicho segundo polipéptido para formar una molécula tetravalente (por ejemplo, un monómero, un anticuerpo monomérico como se describe en la sección de
20 Ejemplos) (por ejemplo, compuestos E y V). En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, donde cada uno de dicho primer polipéptido comprende un tercer enlazador, una bisagra, una CH2 y una CH3 y cada uno de dicho segundo

polipéptido comprende un cuarto enlazador y donde la bisagra, la CH₂ y la CH₃ de uno del primer polipéptido se asocia a la bisagra, la CH₂ y la CH₃ del otro del primer polipéptido y el tercer enlazador de cada primer polipéptido se asocia al cuarto enlazador de uno de dicho segundo polipéptido para formar una molécula tetravalente (por ejemplo, un monómero, un anticuerpo monomérico como se describe en la sección de Ejemplos) (por ejemplo, compuestos U y T).

10 Otros aspectos de la descripción se refieren a un primer compuesto que compite con un segundo compuesto para unirse a IL-23A y a BAFF, donde dicho primer compuesto comprende un tercer polipéptido y un cuarto polipéptido, donde:

15 (A) dicho tercer polipéptido comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína objetivo;

20

(ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína objetivo; y

(iii) una región bisagra, una región constante de cadena pesada 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y

(B) dicho cuarto polipéptido comprende:

5

(i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína objetivo;

10 (ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína objetivo;

y donde

15

(i) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha primera proteína objetivo;

(ii) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión
20 que se une a dicha segunda proteína objetivo; y

(iii) dicha primera proteína objetivo es BAFF y dicha segunda proteína objetivo es IL-23A o dicha primera proteína objetivo es IL-23A y dicha segunda proteína objetivo BAFF,

y donde dicho segundo compuesto comprende un primer polipéptido y un segundo polipéptido, donde:

(i) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o

(ii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; o

(iii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; o

(iv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; o

(v) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14; o

(vi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:15 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:16; o

(vii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:17 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; o

(viii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:19 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20; o

(ix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:21 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22; o

15

(x) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:23 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24; o

20 (xi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:25 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26; o

(xii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:27 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28; o

(xiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:29 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; o

(xiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:31 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; o

(xv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:33 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

15

(xvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:35 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; o

20 (xvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:37 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38; o

(xviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:39 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; o

(xix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:41 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

(xx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:43 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44; o

(xxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:45 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

15

(xxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:47 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o

20 (xxiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:49 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

(xxiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:51 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; o

(xxv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:53 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

(xxvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:55 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

(xxvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:57 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

15

(xxviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:59 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

20 (xxix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:61 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

(xxx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:63 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

(xxxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

(xxxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

Otros aspectos de la descripción se relacionan con un compuesto que comprende dos del primer polipéptido y dos del segundo polipéptido;

donde dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro y donde cada uno de dicho primer polipéptido se asocia a uno de dicho segundo polipéptido mediante al menos un enlace disulfuro;

donde cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína

objetivo;

(ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína

5 objetivo;

(iii) una región constante de cadena pesada 1 (CH1), una región bisagra, una región constante de cadena pesada 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y

10

donde cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína

15 objetivo;

(ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína
objetivo;

20

(iii) un dominio de región constante de cadena ligera (CL);

donde la bisagra, la CH2 y la CH3 de uno de los primeros polipéptidos se asocia con la bisagra, CH2 y CH3 del otro de

los primeros polipéptidos y la CH1 de cada uno de dichos primeros polipéptidos se asocia con el CL de dichos segundos polipéptidos para formar una molécula tetravalente;

5 donde

a) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha primera proteína objetivo;

10 b) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha segunda proteína objetivo;

c) dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición
15 254 y ácido glutámico en la posición 256, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat; y

d) dicha primera proteína objetivo es BAFF y dicha segunda proteína objetivo es IL-23A o dicha primera proteína objetivo
20 es IL-23A y dicha segunda proteína objetivo BAFF,

y donde:

(i) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:2, dicho VH1 comprende la

SEQ ID NO:1, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

(ii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende
5 la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:2 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:1; o

(iii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:85, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:84, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho
10 VH2 comprende la SEQ ID NO:4; o

(iv) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:85 y dicho
VH2 comprende la SEQ ID NO:84; o

15

(v) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:87, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:86, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho
VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

20 (vi) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:87 y dicho
VH2 comprende la SEQ ID NO:86; o

(vii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:89, dicho VH1 comprende

la SEQ ID NO:88, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

(viii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:89 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:88; o

(ix) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:91, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:90, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

(x) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:91 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:90.

15

En algunas modalidades que se relacionan con el aspecto anterior, cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende además un primer enlazador entre dicho VL1 y dicho VH2 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende además un segundo enlazador entre dicho VL2 y dicho VH1. En algunas modalidades, dicho primer enlazador o dicho segundo enlazador comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69).

En algunas modalidades, cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende además un tercer enlazador entre dicho VH2 (o dicho VL1) y dicha CH1, y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende además un cuarto enlazador entre dicho

5 VH1 (o dicho VL2) y dicha CL. En algunas modalidades, dicho tercer enlazador o dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70) En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70)

10 En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprende un residuo de cisteína opcional. En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGCGGG (SEQ ID NO:135) o LGGCGGGS (SEQ ID NO:136). En algunas modalidades, dicha

15 región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat. En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de dicha región bisagra, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) o dicha región

20 constante de cadena pesada 3 (CH3) se obtiene a partir de IgG1 o de IgG4. En algunas modalidades, dicha región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76), la secuencia de aminoácidos LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130) o la secuencia de aminoácidos ESKYGPPCPPCP (SEQ ID

NO:134).

En algunas modalidades,

- 5 (i) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:6; o
- 10 (ii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:8; o
- 15 (iii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:14; o
- 20 (iv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:15 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:16; o

(v) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22; o

5

(vi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26; o

10

(vii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; o

15

(viii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

20

(ix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38; o

(x) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

5

(xi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

10

(xii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

15

(xiii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

20

(xiv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

(xv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

5

(xvi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

10

(xvii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

15

(xviii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

20

(xix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

(xx) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

5

Otros aspectos de la descripción se relacionan con un compuesto que comprende dos del primer polipéptido y dos del segundo polipéptido; donde dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro y donde cada uno de dichos primeros polipéptidos se asocia a uno de dichos segundos polipéptidos mediante al menos un enlace de disulfuro; y donde (i) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o

15

(ii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; o

20

(iii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de

SEQ ID NO:14; o

(iv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:15 y cada uno de dichos
5 segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:16; o

(v) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 y cada uno de dichos
10 segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:22; o

(vi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y cada uno de dichos
15 segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:26; o

(vii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y cada uno de dichos
20 segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:30; o

(viii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y cada uno de dichos

segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:34; o

(ix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:38; o

(x) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:42; o

(xi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:46; o

(xii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
20 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:50; o

(xiii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

5 (xiv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

10 (xv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

15 (xvi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

20 (xvii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

(xviii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

5

(xix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

10

(xx) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

15

Otros aspectos de la descripción se relacionan con un compuesto que comprende dos del primer polipéptido y dos del segundo polipéptido;

20 donde dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro y donde cada uno de dicho primer polipéptido se asocia a uno de dicho segundo polipéptido mediante al menos un enlace disulfuro;

donde cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende:

(iv) un dominio variable de cadena ligera de una primera
inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína
5 objetivo;

(v) un dominio variable de cadena pesada de una segunda
inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína
objetivo;

10

(vi) una región bisagra, una región constante de cadena pesada
2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y

donde cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende:

15

(i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda
inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína
objetivo; y

20 (ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera
inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína
objetivo;

donde la bisagra, la CH2 y CH3 de uno del primer polipéptido

se asocia con la bisagra, la CH2 y la CH3 del otro del primer polipéptido y;

donde

5

e) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha primera proteína objetivo;

f) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión
10 que se une a dicha segunda proteína objetivo;

g) dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y ácido glutámico en la posición 256, numeradas de acuerdo
15 con el índice EU de Kabat; y

h) dicha primera proteína objetivo es BAFF y dicha segunda proteína objetivo es IL-23A o dicha primera proteína objetivo es IL-23A y dicha segunda proteína objetivo BAFF,

20

y donde:

(i) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:2, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:1, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2

comprende la SEQ ID NO:3; o

(ii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:2 y dicho VH2

5 comprende la SEQ ID NO:1; o

(iii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:85, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:84, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:4; o

10

(iv) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:85 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:84; o

15 (v) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:87, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:86, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

(vi) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende
20 la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:87 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:86; o

(vii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:89, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:88, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho

VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

(viii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:89 y dicho

5 VH2 comprende la SEQ ID NO:88; o

(ix) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:91, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:90, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

10

(x) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:91 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:90.

15 En algunas modalidades que se relacionan con el aspecto anterior, cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende además un primer enlazador entre dicho VL1 y dicho VH2 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende además un segundo enlazador entre dicho VL2 y dicho VH1. En algunas modalidades,

20 dicho primer enlazador o dicho segundo enlazador comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, cada uno de dichos primeros

polipéptidos comprende además un tercer enlazador entre dicho
 VH2 o dicho VL1 y dicha región bisagra, y cada uno de dichos
 segundos polipéptidos comprende además un cuarto enlazador en
 el extremo C de dicho VH1 o dicho VL2. En algunas modalidades,
 5 dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido comprende
 la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK
 (SEQ ID NO:82) y dicho cuarto enlazador de dicho segundo
 polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos
 GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En otras
 10 modalidades, dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido
 comprende la secuencia de aminoácidos
 GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83) y dicho
 cuarto enlazador de dicho segundo polipéptido comprende la
 secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK
 15 (SEQ ID NO:82). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador
 de dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
 aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82)
 o la secuencia de aminoácidos
 GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En otras
 20 modalidades, dicho cuarto enlazador de dicho segundo
 polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos
 GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) o la
 secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
 (SEQ ID NO:83). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador

comprende la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72) o la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71). En algunas modalidades, dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71) o la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador comprende la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72) y dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71) En algunas modalidades, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat. En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de dicha región bisagra, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) o dicha región constante de cadena pesada 3 (CH3) se obtiene a partir de IgG1 o de IgG4. En algunas modalidades, dicha región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76), la secuencia de aminoácidos LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130) o la secuencia de aminoácidos ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134). En algunas modalidades, (i) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; o

(ii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; o

5 (iii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; o

10 (iv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20; o

15 (v) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24; o

20 (vi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28; o

(vii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; o

5

(viii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; o

10

(ix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; o

15

(x) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44; o

20

(xi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o

(xii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52.

5

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto descrito anteriormente.

10 Otros aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una enfermedad autoinmuntaria o inflamatoria que comprende administrar un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto descrito anteriormente, o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto a un sujeto.

15

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto descrito anteriormente, para su uso en la medicina. En algunas modalidades, dicho uso es el tratamiento de una enfermedad
20 autoinmuntaria o inflamatoria.

Otros aspectos de la descripción se refieren a una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto descrito anteriormente, para

su uso en la medicina. En algunas modalidades, dicho uso es el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria.

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido descrito en la presente, tal como un polipéptido descrito anteriormente. Otros aspectos de la invención se refieren a un vector que comprende dichos ácidos nucleicos. En algunas modalidades, el vector comprende un promotor enlazado de forma operativa a dicho ácido nucleico. Otros aspectos de la invención se refieren a una célula que comprende dichos ácido nucleico o dicho vector.

Otros aspectos de la descripción se refieren a un método para producir un compuesto o polipéptido tal como se describe en la presente, tal como un polipéptido descrito anteriormente, que comprende obtener una célula descrita en la presente, tal como una célula descrita anteriormente, y expresar un ácido nucleico tal como se describe en la presente en dicha célula. En algunas modalidades, el método comprende además aislar y purificar dicho polipéptido o compuesto.

Los detalles de una o más modalidades de la descripción se establecen en la descripción a continuación. Otras

características o ventajas de la presente descripción resultarán evidentes a partir de las siguientes figuras y la descripción detallada de diversas modalidades y también a partir de las reivindicaciones adjuntas.

5

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las siguientes figuras forman parte de la presente memoria descriptiva y están incluidos para mostrar adicionalmente
10 determinados aspectos de la presente descripción, que pueden entenderse mejor mediante la referencia a una o más de estas figuras en combinación con la descripción detallada de las modalidades específicas presentadas en la presente.

15 La Figura 1A es un diagrama de un compuesto de ejemplo específico para BAFF e IL23A. La primera cadena de polipéptidos contiene los dominios de CH3, CH2, VH₂ (VH_{II}) y VL₁ (VL_I). La segunda cadena de polipéptidos contiene los dominios de VH₁ (VH_I) y VL₂ (VL_{II}). VL₁ y VH₁ son específicos para una primera
20 proteína objetivo (ya sea BAFF o IL23A) y VL₂ y VH₂ son específicos para una segunda proteína objetivo (ya sea IL23A o BAFF). El panel superior muestra cada cadena de polipéptidos por separado. El panel inferior muestra un compuesto tetravalente (por ejemplo, monómero, un anticuerpo monomérico

como se describe en la sección de Ejemplos) formado a través de la asociación de los dominios de CH2 y CH3 de un primer polipéptido con los dominios CH2 y CH3 de otro primer polipéptido. Los dominios de unión para la primera y la segunda
5 proteína objetivo se forman a través de la asociación de VH₁ y VL₁ y a través de la asociación de VH₂ y VL₂, respectivamente.

La Figura 1B es un diagrama de otro compuesto de ejemplo específico para BAFF e IL23A. La primera cadena de polipéptidos
10 contiene los dominios de CH3, CH2, CH1, VH2 (VH_{II}) y VL₁ (VL_I). La segunda cadena de polipéptidos contiene los dominios de CL, VH₁ (VH_I) y VL₂ (VL_{II}). VL₁ y VH₁ son específicos para una primera proteína objetivo (ya sea BAFF o IL23A) y VL₂ y VH₂ son específicos para una segunda proteína objetivo (ya sea IL23A o
15 BAFF). El panel superior muestra cada cadena de polipéptidos por separado. El panel inferior muestra un compuesto tetravalente (por ejemplo, monómero, un anticuerpo monomérico como se describe en la sección de Ejemplos) formado a través de la asociación de los dominios de CH2 y CH3 de un primer
20 polipéptido con los dominios CH2 y CH3 de otro primer polipéptido. Los dominios de unión para la primera y la segunda proteína objetivo se forman a través de la asociación de VH₁ y VL₁ y a través de la asociación de VH₂ y VL₂, respectivamente. El compuesto se asocia a través de las interacciones entre los

dominios de CL y CH1.

La Figura 2 es una gráfica que muestra las concentraciones en suero (media $\pm$ SD) para el Compuesto A (cuadrados cerrados),
5 el Compuesto B (cuadrados abiertos), el Compuesto C (triángulos cerrados) y el Compuesto D (triángulos abiertos) en monos cynomolgus luego de una dosis intravenosa de 1 mg/kg única, como se describe en el Ejemplo 10.

10 La Figura 3 muestra el perfil de concentración-tiempo de suero humano previsto del Compuesto B, luego de una dosis s.c. de 100 mg administrada una vez cada dos semanas, como se describe en el Ejemplo 11. La línea punteada representa el $C_{\min}$ objetivo (30 nM).

15

La Figura 4 muestra el resumen gráfico del porcentaje de monómeros con respecto a la concentración para el Compuesto B, como se describe en el Ejemplo 14.

20 La Figura 5 muestra que el Compuesto B mantiene potencia funcional con respecto a anti-BAFF in vivo. Los ratones se dosificaron de forma equimolar con ya sea anti-BAFF o el Compuesto B y se estimuló con minicírculos de BAFF humano para inducir la expansión de linfocitos B. En el día 14 los bazo

se recolectaron y se analizaron mediante citometría de flujo para determinar linfocitos B B220+ como una medida de bloqueo funcional de BAFF.

5 La Figura 6 muestra que el Compuesto B mantiene potencia funcional con respecto a anti-IL23 in vivo. Evaluación del Compuesto B en el ensayo de citosina inducida por IL23. Los ratones se dosificaron de forma equimolar con ya sea anti-IL23 o el Compuesto B y se estimularon con IL23 humanos dos veces
10 para inducir la inflamación del oído. Veinticuatro horas después de la inyección final, se recolectaron las orejas y se analizaron para detectar IL17A de ratón e IL22 de ratón como medición del bloqueo funcional de IL23.

15 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Se describen en la presente compuestos que se unen a BAFF e IL-23A (también designado como IL23p19 o IL23A). En la actualidad, no existen compuestos aprobados que se dirijan a
20 BAFF e IL23A. Existen estudios limitados con neutralización simultánea de dos/más mediadores inflamatorios clave que utilizan un enfoque bioterapéutico y estos estudios no pudieron mostrar mejoras en los resultados clínicos que se midieron para la artritis reumatoide (RA). Además, dichas combinaciones

pueden aumentar los efectos secundarios, tal como el riesgo a una infección (ver, por ejemplo, Genovese, M.C., Cohen, S., Moreland, L., Lium, D., Robbins, S., et ál. (2004). Arth. Rheum. 50, 1412-9; Genovese, M.C., Cohen, S., Moreland, L., Lium, D., Robbins, S., et ál. (2004). Arth. Rheum. 50, 1412-9; and Weinblatt, M., Schiff, M., Goldman, A. Kremer, J., Luggen, M., et ál. (2007) Ann.Rheum.Dis.66, 228-34)). Además, dichos compuestos biespecíficos han sido difíciles de diseñar debido a problemas relacionados con la solubilidad (por ejemplo, agregación) y la estabilidad (por ejemplo, farmacocinética deficiente).

De manera sorprendente, se descubrió que algunos de los compuestos descritos en la presente que se unen a BAFF y a IL-23A tienen propiedades similares o mejoradas en comparación con anticuerpos individuales que se dirigen a IL-23A o BAFF. También se descubrió que algunos compuestos tienen una farmacocinética adecuada y son solubles en intervalos adecuados a los efectos de la dosificación. Además, en algunas modalidades, hay ventajas de la administración única con respecto a la administración de múltiples dosis individuales desde la perspectiva de los efectos secundarios de las terapias individuales, y de una menor dosificación. Además, en algunas modalidades, las propiedades de CMC de los compuestos

demonstraron que algunos compuestos tuvieron temperaturas de fusión altas (T_m) y baja agregación. En un aspecto, un compuesto de ejemplo mostró una agregación particularmente baja en concentraciones altas. Se considera que los compuestos descritos en la presente tienen una o más propiedades favorables, por ejemplo, efectos secundarios disminuidos, facilidad y seguridad de administración mejorada, una semivida aumentada, una afinidad de unión aumentada o una actividad inhibidora aumentada, en comparación con moléculas de anticuerpos estándares, por ejemplo, una molécula de IgG o un fragmento de unión al antígeno (por ejemplo, Fab).

Por consiguiente, los aspectos de la descripción se refieren a compuestos específicos para BAFF e IL-23A, así como a métodos para el uso y la producción de dichos compuestos. En un aspecto, la tecnología objeto se relaciona con composiciones con una eficacia mayor para el tratamiento y prevención de enfermedades autoinmunitarias o inflamatorias, tales como lupus eritematoso sistémico (SLE), lupus eritematoso sistémico con compromiso renal/lupus nefrítico (LN), vasculitis asociada con ANCA (AAV, por sus siglas en inglés), síndrome de Sjogren primario (pSS), enfermedad de injerto contra huésped crónica (cGVHD, por sus siglas en inglés), esclerosis sistémica (SSc, por sus siglas en inglés), artritis reumatoide (RA, por sus siglas en inglés),

soriasis (Ps), espondilitis anquilosante (AS, por sus siglas en inglés) y artritis soriática (PA, por sus siglas en inglés). Un antagonista dual de BAFF/IL23A inhibirá el complejo de autoanticuerpos/inmunitario y el daño final a los órganos
5 mediado por el eje de IL23 y puede lograr una inducción superior y mantenimiento de la respuesta clínica que el Estándar de Cuidados actual para el tratamiento de SLE y LN. En comparación con la coadministración de un anticuerpo BAFF y un anticuerpo IL-23 para inhibir ambas vías al mismo tiempo, un antagonista
10 dual de BAFF/IL23A es más conveniente para el paciente que puede conducir a un mejor cumplimiento y a la reducción del dolor. Un antagonista dual de BAFF/IL23A debería permitir la administración de dosificaciones reducidas, así como también costos más bajos asociados al tratamiento. Además, un
15 antagonista de BAFF/IL23A también puede ser beneficioso en el tratamiento de un grupo de enfermedades que implica linfocitos B/autoanticuerpos desregulados y daño al tejido mediado por IL-23 que incluye síndrome primario de Sjogren (pSS), enfermedad de injerto contra huésped (cGVHD), esclerosis
20 sistémica (SSc) y vasculitis asociada con ANCA (AAV).

Es difícil diseñar una molécula terapéutica de direccionamiento doble que junta dos entidades farmacológicas y mantiene la potencia funcional de cada componente, mientras que tiene, al

mismo tiempo, propiedades biofísicas adecuadas para la fabricación a gran escala. El desarrollo de moléculas de direccionamiento doble se ha visto obstaculizado por varios problemas relacionados con la estabilidad in vitro e in vivo, tales como una expresión, agregación insuficientes, vida útil limitada, estabilidad en suero insuficiente y propiedades farmacocinéticas insuficientes in vivo (Demarest SJ, Glaser SM. (2008). Curr Opin Drug Discov Devel. 11, 675-87).

En la presente, se describe un método para crear moléculas de direccionamiento doble que inhiben la función de BAFF y IL23. La moléculas de direccionamiento doble de la tecnología objeto tienen propiedades ventajosas y sorprendentes tales como temperaturas de fusión altas (T_m), agregación baja en concentraciones altas y propiedades PK humanas previstas que permiten una administración s.c. de una vez cada dos semanas o menos frecuente.

Compuestos

20

Los aspectos de la descripción se relacionan con un compuesto específico para BAFF e IL23A. A continuación se muestra una secuencia de proteínas de ejemplo para BAFF y una secuencia proteica ilustrativa para IL23A.

Factor de activación de linfocitos B >sp|Q9Y275| (BAFF) -
 TN13B_HUMAN Miembro de la superfamilia del ligando del factor
 de necrosis tumoral 13B OS=Homo sapiens GN=TNFSF13B PE=1 SV=1

5 MDDSTEREQSRLTSCCLKREEMKLKECVSILPRKESPSVRSSKDGKLLAATLLALLSCCL
 TVVSFYQVAALQGD LASLRAELQGHHA EKLPAGAGAPKAGLEEAPAVTAGLKIFEPAPGE
 GNSSQNSRNKRAVQGPEETVTQDCLQLIADSETPTIQKGSYTFVPWLLSFKRGSAALEKEN
 KILVKETGYFFIYGQVLYTDKTYAMGH LIQRKKVHVFGDELSLVTLFRCIQNMPETLPNNS
 CYSAGIAKLEEGDELQLAIPRENAQISLDGDVTFFGALKLL (SEQ ID NO:80)

10

>NP_057668.1 - IL23A [Homo sapiens]

MLGSRAVM LLLLLLPWTAQGRAVPGGSSPAWTQCQQLSQKLCTLAWSAHPLVGHMDLREEGD
 EETTNDVPHIQCGDGC DPQGLRDNSQFCLQRIHQGLIFYEKLLGSDIFTGEP SLLPDSPVG
 15 QLHASLLGLS QLLQPEGHHWETQQIPSLSPSQPWQRLLLRFKILRSLQAFVAVAA RVFAHG
 AATLSP (los aminoácidos 1-19 son una secuencia de señal
 prevista) (SEQ ID NO:81)

En algunas modalidades, el compuesto comprende un primer
 20 polipéptido y un segundo polipéptido. En algunas modalidades,
 el primer polipéptido comprende (i) un dominio variable de
 cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico
 para una primera proteína objetivo, (ii) un dominio variable
 de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2)

específico para una segunda proteína objetivo; y (iii) una
región bisagra, una región constante de cadena pesada 2 (CH2)
y una región constante de cadena pesada 3 (CH3). En algunas
modalidades, el primer polipéptido comprende además una región
5 constante de cadena pesada 1 (CH1). En algunas modalidades, el
segundo polipéptido comprende: (i) un dominio variable de
cadena ligera de la segunda inmunoglobulina (VL2) específico
para la segunda proteína objetivo; (ii) un dominio variable de
cadena pesada de la primera inmunoglobulina (VH1) específico
10 para la primera proteína objetivo. En algunas modalidades, el
segundo polipéptido comprende además una región constante de
cadena ligera (CL).

Debe entenderse que los dominios variables y los
15 dominios/regiones constantes del primer polipéptido pueden
estar en cualquier orden y que los dominios variables y los
dominios/regiones constantes (si los hay) del segundo
polipéptido pueden estar en cualquier orden. A continuación se
muestran múltiples configuraciones de ejemplo para los
20 dominios/regiones en el primer y el segundo polipéptido desde
el extremo N al extremo C.

Configuración 1 del primer polipéptido: N-VL1-VH2-bisagra-CH2-
CH3-C

Configuración 2 del primer polipéptido: N-VH2-VL1-bisagra-CH2-CH3-C

Configuración 3 del primer polipéptido: N-VL1-VH2-CH1-bisagra-CH2-CH3-C

Configuración 4 del primer polipéptido: N-VH2-VL1-CH1-bisagra-CH2-CH3-C

Configuración 1 del segundo polipéptido: N-VL2-VH1-C

Configuración 2 del segundo polipéptido: N-VH1-VL2-C

Configuración 3 del segundo polipéptido: N-VL2-VH1-CL-C

Configuración 4 del segundo polipéptido: N-VH1-VL2-CL-C

Las configuraciones de ejemplo del compuesto se muestran en las Figuras 1A y 1B.

En algunas modalidades, las regiones variables del primer polipéptido y el segundo polipéptido se asocian entre sí para formar un sitio de unión para la primera proteína objetivo y un sitio de unión para la segunda proteína objetivo. En algunas modalidades, el VL1 del primer polipéptido y el VH1 del segundo

polipéptido se asocian para formar un sitio de unión que se une a la primera proteína objetivo, y el VL2 del segundo polipéptido y el VH2 del primer polipéptido se asocian para formar un sitio de unión que se une a la segunda proteína objetivo. En algunas modalidades, la primera proteína objetivo es BAFF y la segunda proteína objetivo es IL23A. En otras modalidades, la primera proteína objetivo es IL23A y la segunda proteína objetivo es BAFF. Se entenderá que no se pretende que los términos "primera" y "segunda" impliquen un nivel de importancia para cada proteína objetivo.

A continuación se proporcionan combinaciones de ejemplo de secuencias para cada VL1, VH1, VL2 y VH2 en la Tabla 1 y también en la Tabla 2 en el Ejemplo 1.

Tabla 1. Combinaciones de ejemplo de secuencias para VL1, VH1, VL2 y VH2.

Número de la combinación	secuencia de VL1	secuencia de VH1	secuencia de VL2	secuencia de VH2
1	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3
2	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:1
3	SEQ ID NO:85	SEQ ID	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO:

		NO:84		3
4	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:85	SEQ ID NO:84
5	SEQ ID NO:87	SEQ ID NO:86	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3
6	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:87	SEQ ID NO:86
7	SEQ ID NO:89	SEQ ID NO:88	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3
8	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:89	SEQ ID NO:88
9	SEQ ID NO:91	SEQ ID NO:90	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3
10	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:91	SEQ ID NO:90

En algunas modalidades, el compuesto comprende una secuencia de VL1 que comprende una primera cadena ligera CDR1, CDR2 y CDR3 y una secuencia de VH1 que comprende una primera cadena pesada CDR1, CDR2 y CDR3, una secuencia de VL2 que comprende una segunda cadena ligera CDR1, CDR2 y CDR3 y una secuencia de VH2 que comprende una segunda cadena pesada CDR1, CDR2 y CDR3. En algunas modalidades, las CDR son CDR de una o más de las secuencias de VL1, VH1, VL2 y VH2 proporcionadas en la Tabla 1. A continuación se muestran las secuencias de CDR de cadena ligera y cadena pesada de ejemplo para las secuencias de VL1,

VH1, VL2 y VH2 proporcionadas en la Tabla 1:

SEQ ID NO: 1 CDR: GGTFNNNAIN (SEQ ID NO:92) (CDR1),
 GIIPMFGTAKYSQNFQG (SEQ ID NO:93) (CDR2), SRDLLLFPHHALSP (SEQ
 5 ID NO:94) (CDR3)

SEQ ID NO: 2 CDR: QGDSLRSYYAS (SEQ ID NO:95) (CDR1), GKNNRPS
 (SEQ ID NO:96) (CDR2), SSRDSSGNHWV (SEQ ID NO:97) (CDR3)

10 SEQ ID NO: 3 CDR: GYTFTDQTIH (SEQ ID NO:98) (CDR1),
 YIYPRDDSPKYNEFKG (SEQ ID NO:99) (CDR2), PDRSGYAWFIY (SEQ ID
 NO:100) (CDR3)

SEQ ID NO: 4 CDR: KASRDVAIAVA (SEQ ID NO:101) (CDR1), WASTRHT
 15 (SEQ ID NO:102) (CDR2), HQYSSYPFT (SEQ ID NO:103) (CDR3)

SEQ ID NO: 84 CDR: DHIFSIHWMQ (SEQ ID NO:104) (CDR1),
 EIFPGSGTTDYNEKFKG (SEQ ID NO:105) (CDR2), GAFDY (SEQ ID NO:106)
 (CDR3)

20

SEQ ID NO: 85 CDR: RASQDIGNRLS (SEQ ID NO:107) (CDR1 ATSSLDS
 (SEQ ID NO:108) (CDR2), LQYASSPFT (SEQ ID NO:109) (CDR3)

SEQ ID NO: 86 CDR: DHIFSIHWMQ (SEQ ID NO:110) (CDR1),

EIFPGSGTTDYNEKFKG (SEQ ID NO:111) (CDR2), GAFDY (SEQ ID NO: 112) (CDR3)

SEQ ID NO: 87 CDR: RASQDIGNRLN (SEQ ID NO:112) (CDR1 ATSSLDS
5 (SEQ ID NO:113) (CDR2), LQYASSPFT (SEQ ID NO:114) (CDR3)

SEQ ID NO: 88 CDR: GYSFSTFFIH (SEQ ID NO:115) (CDR1),
RIDPNSGATKYNEKFES (SEQ ID NO:116) (CDR2), GEDLLIRTDALDY (SEQ
ID NO:117) (CDR3)

10

SEQ ID NO: 89 CDR: KASQNAGIDVA (SEQ ID NO:118) (CDR1), SKSNRYT
(SEQ ID NO: 119) (CDR2), LQYRSYPRT (SEQ ID NO:120) (CDR3)

SEQ ID NO: 90 CDR: GYSFSTFFIH (SEQ ID NO:121) (CDR1),
15 GRIDPNSGATKYNEKFES (SEQ ID NO:122) (CDR2), GEDLLIRTDALDY (SEQ
ID NO:123) (CDR3)

SEQ ID NO: 91 CDR: KASQNAGIDVA (SEQ ID NO:124) (CDR1), SKSNRYT
(SEQ ID NO:125) (CDR2), LQYRSYPRT (SEQ ID NO:126) (CDR3)

20

En algunas modalidades, el compuesto comprende un VH1, VL1, VH2 y/o VL2 que comprende una secuencia que es al menos 80 % (por ejemplo, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %) idéntica (residuo por residuo para la longitud total de la

secuencia) a la secuencia descrita en la Tabla 1. El "porcentaje de identidad" de dos secuencias de aminoácidos se determina mediante el uso del algoritmo de Karlin y Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 87:2264-68, 1990, modificada tal como en Karlin y Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 90:5873-77, 1993. Dicho algoritmo se incorpora en los programas NBLAST y XBLAST (versión 2.0) de Altschul, et ál. J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990. Las búsquedas de proteínas BLAST pueden realizarse con el programa XBLAST, valor=50, longitud de palabra=3 para obtener secuencias de aminoácidos homólogas a las moléculas de las proteínas de interés. Cuando existen huecos entre dos secuencias, es posible utilizar Gapped BLAST tal como se describe en Altschul et ál., Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402, 1997. Cuando se utilizan los programas BLAST y Gapped BLAST, pueden utilizarse los parámetros predeterminados de los programas respectivos (por ejemplo, XBLAST y BLAST).

En algunas modalidades, el compuesto comprende un VH1, VL1, VH2 y/o VL2 que comprende una secuencia que comprende una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más) mutaciones en una secuencia descrita en la Tabla 1. Dichas mutaciones pueden ser sustituciones conservadoras de aminoácidos. Tal como se usa en la presente, una "sustitución conservadora de

aminoácidos" se refiere a una sustitución de aminoácidos que no altera las características de tamaño o carga relativa de la proteína en la que se realiza la sustitución de aminoácidos. Las sustituciones conservadoras de aminoácidos incluyen, por ejemplo, sustituciones realizadas entre los aminoácidos dentro de los siguientes grupos: (a) M, I, L, V; (b) F, Y, W; (c) K, R, H; (d) A, G; (e) S, T; (f) Q, N; y (g) E, D.

Las secuencias de aminoácidos de la región bisagra, CH2 y CH3 del compuesto (y opcionalmente de CH1 y CL, si el compuesto contiene dichas regiones) pueden obtenerse a partir de cualquier fuente adecuada, por ejemplo, una región constante de un anticuerpo tal como IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. Las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de cadena pesada y ligera de los anticuerpos se conocen en la técnica, por ejemplo, las que se proporcionan en la base de datos de IMGT (www.imgt.org) o en www.vbase2.org/vbstat.php., las cuales se incorporan a la presente mediante referencia. Adicionalmente, en algunos sistemas de expresión, el residuo de lisina del extremo C del dominio CH3 puede retirarse de forma postransduccional. Por consiguiente, el residuo de lisina del extremo C del dominio CH3 es un residuo de aminoácidos opcional. Se proporcionan específicamente mediante la presente invención moléculas que no tienen el residuo de lisina de

extremo C del dominio CH3. También se encuentran comprendidas específicamente por la presente invención dichas construcciones que comprenden el residuo de lisina de extremo C del dominio CH3. En algunas modalidades, las secuencias de aminoácidos de CH2 y CH3 se obtienen a partir de una IgG1 (por ejemplo, SEQ ID NO:75) o IgG4 (por ejemplo, la SEQ ID NO:73). En algunas modalidades la CL comprende la secuencia de aminoácidos de una CL kappa o CL lambda. En algunas modalidades, la región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76). La región bisagra de la SEQ ID NO:76 se encuentra en, por ejemplo, el polipéptido de la SEQ ID NO:5. En otras modalidades, la región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130). La región bisagra de la SEQ ID NO:130 se encuentra en, por ejemplo, el polipéptido de la SEQ ID NO:9. La región bisagra de la SEQ ID NO:130 también se encuentra en el comienzo del dominio Fc de la SEQ ID NO:129. En aun otras modalidades, la región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134). La región bisagra de la SEQ ID NO:134 se encuentra en, por ejemplo, el polipéptido de la SEQ ID NO:13. La región bisagra de la SEQ ID NO:134 también se encuentra en el comienzo del dominio Fc de la SEQ ID NO:127.

En algunas modalidades, la CH2 y/o la CH3 del compuesto (y

opcionalmente de CH1 y CL, si el compuesto contiene dichas regiones) pueden comprender una o más sustituciones de aminoácidos que difieren de una CH2 o CH3 de tipo salvaje, por ejemplo, una o más sustituciones de aminoácidos en una CH2 o CH3 de IgG1 de tipo salvaje o una o más sustituciones de aminoácidos en una CH2 o CH3 de IgG4 de tipo salvaje (la SEQ ID NO: 39 proporciona una IgG1 de tipo salvaje de ejemplo). Dichas sustituciones son conocidas en la técnica (ver, por ejemplo, US7704497, US7083784, US6821505, US8323962, US6737056 y US7416727).

En algunas modalidades, la CH2 comprende una sustitución de aminoácidos en 234, 235, 252, 254, y/o 256, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat para un anticuerpo convencional (Kabat et ál. Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Health and Human Services, 1991, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia). Se entenderá que todas las posiciones de aminoácidos descritas en la presente se refieren a la numeración del índice EU de Kabat para un anticuerpo convencional. En algunas modalidades, la CH2 comprende una sustitución de aminoácidos en la posición 252, 254 y/o 256. En algunas modalidades, el aminoácido en la posición 252 es tirosina, fenilalanina, serina, triptófano o treonina. En

algunas modalidades, el aminoácido en la posición 254 es treonina. En algunas modalidades, el aminoácido en la posición 254 es serina, arginina, glutamina, ácido glutámico o ácido aspártico. En algunas modalidades, la CH2 comprende una
5 tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y un ácido glutámico en la posición 256 (al que se hace referencia en la presente como un mutante YTE). En algunas modalidades, la CH2 comprende una sustitución de aminoácidos en la posición 234 y/o 235. En algunas modalidades, la CH2 comprende una
10 alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235, a la que también se hace referencia en la presente como un mutante KO. En algunas modalidades, la CH2 comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254, un ácido glutámico en la posición 256, una alanina en la posición 234 y
15 una alanina en la posición 235, al que se hace referencia en la presente como un mutante KO-YTE.

En algunas modalidades, pueden utilizarse uno o más enlazadores para conectar dominios/regiones entre sí en el primer y/o el
20 segundo polipéptido. Por ejemplo, el primer polipéptido puede comprender un enlazador entre el VL1 y VH2. El primer polipéptido comprende adicionalmente un enlazador entre el VL1 o VH2 (dependiendo de la configuración como se describe anteriormente) y el bisagra (por ejemplo, -VL1-enlazador-

bisagra o -VH2-enlazador-bisagra). Si el primer polipéptido comprende una CH1, por ejemplo, el primer polipéptido puede comprender un enlazador entre el VL1 o VH2 (dependiendo de la configuración descrita anteriormente) y la CH1 (por ejemplo, VL1-enlazador-CH1 o VH2-enlazador-CH1). En otro ejemplo, el segundo polipéptido puede comprender un enlazador entre el VL2 y VH1. El segundo polipéptido puede comprender además un enlazador luego del VL2 o VH1 (dependiendo de la configuración tratada anteriormente, por ejemplo, -VL2-enlazador o -VH1-enlazador) en el extremo C de la cadena de polipéptidos. Si el segundo polipéptido comprende además una CL, el segundo polipéptido puede comprender además un enlazador entre el VL2 o VH1 (dependiendo de la configuración como se trató anteriormente) y la CL (como en, por ejemplo, VL2-enlazador-CL o VH1-enlazador-CL). Se entenderá que puede utilizarse cualquier cantidad de enlazadores para conectar cualquier dominio o región a cualquier otro dominio o región en el primer polipéptido y/o que puede utilizarse cualquier cantidad de enlazadores para conectar cualquier dominio o región a cualquier otro dominio o región en el segundo polipéptido.

Se contempla cualquier enlazador conocido en la técnica para su uso en la presente. En algunas modalidades, el enlazador es un enlazador peptídico. En algunas modalidades, el enlazador

peptídico comprende al menos dos aminoácidos, por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos. En algunas modalidades, un enlazador peptídico tiene una longitud no mayor que 50, 40, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, o 2 aminoácidos. En algunas modalidades, un enlazador peptídico tiene una longitud entre 2 y 50, 2 y 40, 2 y 30, 2 y 20, 2 y 10, 2 y 9, 2 y 8, 2 y 7, o 2 y 6 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador peptídico comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69), LGGGSG (SEQ ID NO:70), FNRGEC (SEQ ID NO:71), VEPKSC (SEQ ID NO:72), GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82), GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83) o una combinación de estas. En algunas modalidades, el enlazador peptídico puede comprender múltiples copias de una secuencia enlazadora, por ejemplo, múltiples copias de la secuencia GGGSGGGG (SEQ ID NO:69), LGGGSG (SEQ ID NO:70), FNRGEC (SEQ ID NO:71), VEPKSC (SEQ ID NO:72) o una combinación de estas.

En algunas modalidades, el primer y el segundo polipéptido tienen las siguientes configuraciones:

Primer polipéptido, configuración 1: N-VL1-VH2-bisagra-CH2-CH3-C,

Primer polipéptido, configuración 2: N-VH2-VL1-bisagra-CH2-CH3-C,

Configuración 1 del segundo polipéptido: N-VL2-VH1-C,

5

Configuración 2 del segundo polipéptido: N-VH1-VL2-C,

donde el primer enlazador entre el VL1 y VH2 del primer polipéptido o el segundo enlazador entre VL2 y VH1 del segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, el primer polipéptido comprende además un tercer enlazador entre el VH2 o VL2 y la región bisagra, y el segundo polipéptido comprende además un cuarto enlazador luego de dicho VH1 o VL2 (en su extremo C). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) y dicho cuarto enlazador de dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En otras modalidades, dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83)

y dicho cuarto enlazador de dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) o la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En otras modalidades, dicho cuarto enlazador de dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) o la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador comprende la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72) o la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71). En algunas modalidades, dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71) o la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador comprende la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72) y dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71). La secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71) es los últimos seis residuos de aminoácidos del dominio CL (SEQ ID NO:77) y el aminoácido VEPKSC (SEQ ID NO: 72) incluye el último aminoácido del CH1 y los primeros cinco residuos de aminoácido de la región bisagra

de SEQ ID NO:76 (como en la SEQ ID NO:5).

En algunas modalidades, el primer y el segundo polipéptido tienen las siguientes configuraciones:

5 Primer polipéptido, configuración 3: N-VL1-VH2-CH1-bisagra-CH2-CH3-C,

Primer polipéptido, configuración 4: N-VH2-VL1-CH1-bisagra-CH2-CH3-C,

10

Configuración 3 del segundo polipéptido: N-VL2-VH1-CL-C,

Configuración 4 del segundo polipéptido: N-VH1-VL2-CL-C,

15 donde el primer enlazador entre dicho VL1 y VH2 del primer polipéptido o dicho segundo enlazador entre dicho VL2 y dicho VH1 del segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la
20 secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer polipéptido comprende además un tercer enlazador entre dicho VH2 o dicho VL1 y dicha CH1, y dicho segundo polipéptido comprende además un cuarto enlazador entre dicho VH1 o dicho VL2 y dicha CL. En algunas modalidades,

dicho tercer enlazador o dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70).

5 En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprende un residuo de cisteína opcional. En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGCGGG (SEQ ID NO:135) o LGGCGGGS (SEQ ID NO:136).

10

En algunas modalidades, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat para un anticuerpo convencional.

15

En algunas modalidades, el compuesto comprende dos del primer polipéptido y dos del segundo polipéptido. En algunas modalidades, la CH2 y la CH3 de uno de los primeros polipéptidos se asocia a la, bisagra, CH2 o CH3 del otro de los primeros
20 polipéptidos para formar una molécula tetravalente (por ejemplo, los dos del primer polipéptido se dimerizan a través de asociaciones entre sus dominios de CH2 y CH3 de bisagra respectivos para formar una molécula tetravalente que comprende dos sitios de unión específicos para la primera proteína

objetivo y dos sitios de unión específicos para la segunda proteína objetivo), un monómero o un anticuerpo monomérico como se describe en la sección de Ejemplos. Si el primer polipéptido comprende además un dominio CH1 y el segundo polipéptido comprende además un dominio CL, los dominios CH1 y CL también pueden participar en la formación de una molécula tetravalente (por ejemplo, los dos primeros polipéptidos se dimerizan a través de asociaciones entre sus dominios de bisagra, CH2 y CH3 respectivos y el CH1 de cada uno de dichos primeros polipéptidos se asocia con el CL de uno de dichos segundos polipéptidos para formar una molécula tetravalente que comprende dos sitios de unión para la primera proteína objetivo y dos sitios de unión para la segunda proteína objetivo) un monómero, un anticuerpo monomérico como se describe en la sección de Ejemplos. En algunas modalidades, los dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro. En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, donde cada uno de dicho primer polipéptido comprende un tercer enlazador, una bisagra, una CH2 y una CH3 y cada uno de dicho segundo polipéptido comprende un cuarto enlazador y donde la bisagra, la CH2 y la CH3 de uno del primer polipéptido se asocia a la bisagra, la CH2 y la CH3 del otro del primer polipéptido y el tercer enlazador de cada primer

polipéptido se asocia al cuarto enlazador de uno de dicho segundo polipéptido para formar una molécula tetraivalente (por ejemplo, un monómero, un anticuerpo monomérico como se describe en la sección de Ejemplos) (por ejemplo, compuestos U y T).

5

En algunas modalidades, la descripción se relaciona con un compuesto que comprende dos del primer polipéptido y dos del segundo polipéptido;

10 donde dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro y donde cada uno de dicho primer polipéptido se asocia a uno de dicho segundo polipéptido mediante al menos un enlace disulfuro;

15 donde cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína objetivo;

20

(ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína objetivo;

(iii) una región constante de cadena pesada 1 (CH1), una región bisagra, una región constante de cadena pesada 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y

5 donde cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína objetivo;

10

(ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína objetivo;

15 (iii) un dominio de región constante de cadena ligera (CL);

donde la bisagra, la CH2 y la CH3 de uno de los primeros polipéptidos se asocia con la bisagra, CH2 y CH3 del otro de los primeros polipéptidos y la CH1 de cada uno de dichos
20 primeros polipéptidos se asocia con el CL de dichos segundos polipéptidos para formar una molécula tetravalente;

donde

a) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha primera proteína objetivo;

b) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión
5 que se une a dicha segunda proteína objetivo;

c) dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y ácido glutámico en la posición 256, numeradas de acuerdo
10 con el índice EU de Kabat; y

d) dicha primera proteína objetivo es BAFF y dicha segunda proteína objetivo es IL-23A o dicha primera proteína objetivo es IL-23A y dicha segunda proteína objetivo BAFF,
15

y donde:

(i) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:2, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:1, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2
20 comprende la SEQ ID NO:3; o

(ii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:2 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:1; o

(iii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:85, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:84, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:4; o

5 (iv) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:85 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:84; o

(v) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:87, dicho VH1 comprende
10 la SEQ ID NO:86, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

(vi) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:87 y dicho
15 VH2 comprende la SEQ ID NO:86; o

(vii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:89, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:88, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

20

(viii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:89 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:88; o

(ix) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:91, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:90, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

- 5 (x) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:91 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:90.

En algunas modalidades que se relacionan con el aspecto
10 anterior, cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende además un primer enlazador entre dicho VL1 y dicho VH2 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende además un segundo enlazador entre dicho VL2 y dicho VH1. En algunas modalidades, dicho primer enlazador o dicho segundo enlazador comprende la
15 secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende además un tercer enlazador entre dicho
20 VH2 o dicho VL1 y dicha CH1, y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende además un cuarto enlazador entre dicho VH1 o dicho VL2 y dicha CL. En algunas modalidades, dicho tercer enlazador o dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70). En algunas

modalidades, dicho tercer enlazador y dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprende un residuo de cisteína opcional. En algunas

5 modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGCGGG (SEQ ID NO:135) o LGGCGGGS (SEQ ID NO:136). En algunas modalidades, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235, numeradas

10 de acuerdo con el índice EU de Kabat. En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de dicha región bisagra, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) o dicha región constante de cadena pesada 3 (CH3) se obtiene a partir de IgG1 o de IgG4. En algunas modalidades, dicha región bisagra

15 comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76), la secuencia de aminoácidos LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130) o la secuencia de aminoácidos ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134). En algunas modalidades, (i) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de

20 SEQ ID NO:5 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o

(ii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y cada uno de dichos

segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:8; o

(iii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:14; o

(iv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:15 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:16; o

(v) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:22; o

(vi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
20 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:26; o

(vii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; o

5 (viii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

10 (ix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38; o

15 (x) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

20 (xi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

(xii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

5

(xiii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

10

(xiv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

15

(xv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

20

(xvi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

(xvii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

5

(xviii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

10

(xix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

15

(xx) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

20

Otros aspectos de la descripción se relacionan con un compuesto que comprende dos del primer polipéptido y dos del segundo polipéptido; donde dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro y donde cada

uno de dichos primeros polipéptidos se asocia a uno de dichos segundos polipéptidos mediante al menos un enlace de disulfuro; y donde (i) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o

(ii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; o

(iii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14; o

(iv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:15 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:16; o

(v) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 y cada uno de dichos

segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:22; o

(vi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:26; o

(vii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:30; o

(viii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:34; o

(ix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
20 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:38; o

(x) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

5 (xi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

10 (xii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

15 (xiii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

20 (xiv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

(xv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

5

(xvi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

10

(xvii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

15

(xviii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

20

(xix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

(xx) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

5

En la presente también se contemplan otros compuestos que compiten para unirse a un compuesto tal como se describe en la presente, por ejemplo, un compuesto de prueba que compite con un compuesto tal como se describe en la presente para unirse a

10 BAFF e IL23A. En algunas modalidades, el compuesto de prueba puede tener al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia (aminoácido por aminoácido en la longitud total de la secuencia) con un compuesto tal como se describe en la presente. La unión competitiva puede

15 determinarse mediante el uso de cualquier ensayo conocido en la técnica, por ejemplo, unión de equilibrio, ELISA, resonancia de plasmones superficiales o espectroscopía.

En algunas modalidades, el compuesto descrito en la presente

20 se une específicamente a BAFF e IL23A. Un compuesto que se "une específicamente" a un antígeno o un epítipo es una expresión conocida en la técnica, y los métodos para determinar dicha unión específica también son conocidos en la técnica. Se dice que una molécula presenta "unión específica" si esta reacciona

o se asocia más frecuentemente, más rápidamente, con mayor duración y/o con mayor afinidad a un antígeno objetivo particular que con objetivos alternativos. Un compuesto se "une específicamente" a un epítipo o antígeno objetivo si se une con mayor afinidad, avidez, más fácilmente y/o con mayor duración con respecto a su unión a otras sustancias. Por ejemplo, un compuesto que se une específicamente (o preferentemente) a un antígeno (por ejemplo, BAFF o IL23A), o un epítipo antigénico en este, es un compuesto que se une a este antígeno objetivo con mayor afinidad, avidez, más fácilmente y/o con mayor duración con respecto a su unión a otros antígenos u otros epítopos en el mismo antígeno. También se entiende luego de leer esta definición que, por ejemplo, un compuesto que se une específicamente a un primer antígeno objetivo puede o no unirse específicamente o preferentemente a un segundo antígeno objetivo. Por lo tanto, la "unión específica" o "unión preferencial" no requieren necesariamente una unión exclusiva (aunque la pueden incluir). Generalmente, aunque no necesariamente, las referencias a la unión serán referencias a la unión preferencial. En algunos ejemplos, un compuesto que se "une específicamente" a un antígeno objetivo o un epítipo de este puede no unirse a otros antígenos u otros epítopos en el mismo antígeno.

En algunas modalidades, un compuesto tal como se describe en la presente tiene una afinidad de unión adecuada para BAFF e IL23 o los epítomos antigénicos de estos. Tal como se usa en la presente, "afinidad de unión" se refiere a la constante de asociación aparente o K_A . La K_A es la recíproca de la constante de disociación (K_D). El compuesto descrito en la presente puede tener una afinidad de unión (K_D) de al menos 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} M o menor para uno o ambos de los antígenos objetivo o los epítomos antigénicos. Un aumento en la afinidad de unión corresponde a una K_D disminuida. En algunas modalidades, el compuesto descrito en la presente tiene una afinidad de unión (K_D) de al menos 10^{-11} M o menor para uno o ambos de los antígenos objetivo o los epítomos antigénicos. Una afinidad de unión mayor de un compuesto para un primer antígeno y un segundo antígeno en relación con un tercer antígeno puede indicarse mediante una K_A mayor (o un valor numérico menor de K_D) para la unión del primer antígeno y el segundo antígeno que la K_A (o valor numérico de K_D) para la unión del tercer antígeno. En dichos casos, el compuesto tiene especificidad para el primer antígeno y el segundo antígeno (por ejemplo, una primera proteína en una primera conformación o un mimético de esta y una segunda proteína en una primera conformación o un mimético de esta) en relación con el tercer antígeno (por ejemplo, la misma primera o segunda proteína en

una segunda conformación o un mimético de esta; o una tercera proteína). Las diferencias en la afinidad de unión (por ejemplo, con respecto a la especificidad u otras comparaciones) pueden ser de al menos 1.5, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 37.5, 50, 70, 80, 91, 100, 500, 1000, 10 000 o 10^5 veces.

La afinidad de unión (o especificidad de unión) puede determinarse mediante una variedad de métodos que incluyen unión de equilibrio, ELISA, resonancia de plasmones superficiales o espectroscopía (por ejemplo, mediante el uso de un ensayo de fluorescencia). Las condiciones de ejemplo para la evaluación de la afinidad de unión se encuentran en un amortiguador de HBS-P (HEPES 10 mM pH 7.4, NaCl 150 mM, tensioactivo P20 al 0.005 % (v/v)). Estas técnicas pueden utilizarse para medir la concentración de la proteína de unión unida en función de la concentración de la proteína objetivo. La concentración de la proteína de unión unida ([Unida]) está relacionada con la concentración de la proteína objetivo libre ([Libre]) y la concentración de los sitios de unión para la proteína de unión en el objetivo donde (N) es la cantidad de sitios de unión por molécula objetivo mediante la siguiente ecuación:

$$[\text{Unida}] = [N][\text{Libre}] / (K_d + [\text{Libre}])$$

Sin embargo, no siempre es necesario realizar una determinación exacta de la K_A , aunque, ya que algunas veces es suficiente obtener una medición cuantitativa de la afinidad, por ejemplo, 5 determinada mediante el uso de un método tal como un análisis ELISA o FACS, es proporcional a K_A , y, por lo tanto, puede utilizarse para las comparaciones, tal como mediante la determinación de si una mayor afinidad es, por ejemplo, 2 veces mayor, obtener una medición cualitativa de la afinidad, u 10 obtener una inferencia de la afinidad, por ejemplo, mediante la actividad en un ensayo funcional, por ejemplo, en un ensayo in vitro o in vivo.

En algunas modalidades, el compuesto comprende un primer 15 polipéptido y un segundo polipéptido tal como se define en la Tabla 2A. En algunas modalidades, el compuesto comprende:

(i) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y dicho segundo polipéptido 20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o

(ii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; o

(iii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; o

5

(iv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; o

10 (v) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14; o

15 (vi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:15 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:16; o

(vii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17 y dicho segundo polipéptido
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; o

(viii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20; o

(ix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22; o

5 (x) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24; o

(xi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
10 aminoácidos de SEQ ID NO:25 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26; o

(xii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27 y dicho segundo polipéptido
15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28; o

(xiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; o

20 (xiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; o

(xv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:33 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

(xvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y dicho segundo polipéptido
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; o

(xvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38; o

(xviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; o
15

(xix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

(xx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43 y dicho segundo polipéptido
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44; o

(xxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:45 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

(xxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:47 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o

(xxiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:49 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

(xxiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:51 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; o

15

(xxv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:53 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

20 (xxvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:55 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

(xxvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:57 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

(xxviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:59 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

(xxix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:61 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

(xxx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:63 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

15

(xxxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:65 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

20 (xxxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:67 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

Métodos de producción de compuestos, ácidos nucleicos, vectores
y células

Los aspectos de la descripción también incluyen ácidos
5 nucleicos que codifican los compuestos descritos en la presente
o los polipéptidos descritos en la presente (por ejemplo el
primer o segundo polipéptido descritos en la presente), que
pueden codificarse juntos o separados. Pueden obtenerse los
polinucleótidos que codifican los compuestos descritos en la
10 presente o los polipéptidos descritos en la presente, y
determinarse la secuencia de nucleótidos de los
polinucleótidos, mediante cualquier método conocido en la
técnica.

15 En algunas modalidades, el ácido nucleico está comprendido
dentro de un vector, tal como un vector de expresión. En algunas
modalidades, el vector comprende un promotor enlazado de forma
operativa al ácido nucleico.

20 Puede utilizarse una variedad de promotores para la expresión
de los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos
descritos en la presente que incluyen, de modo no taxativo,
promotor temprano intermedio de citomegalovirus (CMV), una LTR
viral tal como la LTR del virus del sarcoma de Rous, HIV-LTR,

HTLV-1 LTR, el promotor temprano del virus del simio 40 (SV40), el promotor lac UV5 de *E. coli*, y el promotor del virus tk de herpes simple.

5 También pueden utilizarse promotores regulables. Dichos promotores regulables incluyen los que utilizan el represor de lac de *E. coli* como modulador de la transcripción para regular la transcripción de los promotores de células de mamífero que presentan el operador lac [Brown, M. et ál., *Cell*, 49:603-612
10 (1987)], los que utilizan el represor de la tetraciclina (tetR) [Gossen, M., y Bujard, H., *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA* 89:5547-5551 (1992); Yao, F. et ál., *Human Gene Therapy*, 9:1939-1950 (1998); Shockelt, P., et ál., *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, 92:6522-6526 (1995)]. Otros sistemas incluyen el dímero FK506,
15 VP16 o p65 y el uso de astradiol, RU486, murislerona de difenol, o rapamicina. Los sistemas inducibles se encuentran disponibles en Invitrogen, Clontech y Ariad.

Pueden utilizarse promotores regulables que incluyen un
20 represor con el operón. En una modalidad, el represor de lac de *Escherichia coli* puede funcionar como un modulador de la transcripción para regular la transcripción de los promotores de células de mamífero que presentan el operador lac [M. Brown et ál., *Cell*, 49:603-612 (1987)]; Gossen y Bujard (1992); [M.

Gossen et ál., Nati. Acad. Sci. EUA, 89:5547-5551 (1992)],
combinar el represor de tetraciclina (tetR) con el activador
de la transcripción (VP 16) para crear una proteína de fusión
de tetR-activador de la transcripción en células de mamíferos,
5 tTa (tetR-VP 16), con el promotor mínimo que presenta tetO
obtenido a partir del promotor temprano inmediato mayor del
citomegalovirus humano (hCMV) para crear un sistema de
operadores tetR-tet para controlar la expresión génica en
células de mamífero. En una modalidad, se utiliza un cambio
10 inducible con tetraciclina (Yao et ál., Human Gene Therapy;
Gossen et ál., Nati. Acad. Sci. EUA, 89:5547-5551 (1992);
Shockett et ál., Proc. Natl. Acad. Sci. EUA, 92:6522-6526
(1995)).

15 Además, el vector puede contener, por ejemplo, alguno o todos
de los siguientes: un gen marcador seleccionable, tal como el
gen de neomicina para la selección de transfectantes estables
o transitorios en células de mamífero; secuencias
potenciadoras/promotoras del gen temprano inmediato de CMV
20 humano para niveles de transcripción altos; señales de
procesamiento de ARN y terminación de la transcripción de SV40
para la estabilidad del ARNm; orígenes la replicación del
polioma de SV40 y ColE1 para la replicación episomal adecuada;
sitios de unión internos del ribosoma (IRES), sitios de

clonación múltiples versátiles; promotores del ARN T7 y SP6 para la transcripción in vitro de ARN sentido y antisentido. Los vectores y los métodos adecuados para producir vectores son conocidos y se encuentran disponibles en la técnica.

5

Puede transferirse un vector de expresión que comprende el ácido nucleico a una célula hospedadora mediante técnicas convencionales (por ejemplo, electroporación, transfección liposómica y precipitación de calcio y fosfato) y, luego, las
10 células transfectadas se cultivan mediante técnicas convencionales para producir los compuestos descritos en la presente. En algunas modalidades, se regula la expresión de los compuestos descritos en la presente mediante un promotor constitutivo, inducible o específico del tejido.

15

Las células hospedadoras utilizadas para expresar los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente pueden ser células bacterianas tales como *Escherichia coli*, o, preferentemente, células eucariotas.
20 En particular, las células de mamífero tales como las células de ovario de hámster chino (CHO), junto con un vector tal como el elemento de promotor génico temprano intermedio mayor del citomegalovirus humano forman un sistema de expresión eficaz para las inmunoglobulinas (Foecking et ál., (1986) "Powerful

And Versatile Enhancer-Promoter Unit For Mammalian Expression Vectors," Gene 45:101-106; Cockett et ál. (1990) "High Level Expression Of Tissue Inhibitor Of Metalloproteinases In Chinese Hámster Ovary Cells Using Glutamine Synthetase Gene Amplification," Biotechnology 8:662-667).

También puede utilizarse una variedad de sistemas de vectores de expresión del hospedador para expresar los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente. Dichos sistemas de expresión de hospedador representan vehículos mediante los cuales pueden producirse y, posteriormente, purificarse las secuencias de codificación de los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente, pero también representan células que pueden expresar los compuestos descritos en la presente in situ, cuando se las transforma o transfecta con las secuencias de codificación de nucleótidos adecuadas. Estos incluyen, de modo no taxativo, microorganismos tales como bacteria (por ejemplo, E. coli y B. subtilis) transformados con vectores de expresión de ADN de bacteriofagos recombinante, ADN de plásmido o ADN de cósmido que contienen secuencias de codificación para los compuestos descritos en la presente; levadura (por ejemplo, Saccharomyces pichia) transformada con vectores de expresión de levadura recombinantes que contienen secuencias que

codifican los compuestos descritos en la presente; sistemas de células de insectos infectadas con vectores de expresión de virus recombinantes (por ejemplo, baclovirus) que contienen las secuencias que codifican los compuestos descritos en la presente; sistemas de células vegetales infectadas con vectores de expresión recombinantes de virus (por ejemplo, virus del mosaico de la coliflor (CaMV) y virus del mosaico del tabaco (TMV) o transformadas con vectores de expresión de plásmido recombinantes (por ejemplo, plásmido Ti) que contienen las secuencias que codifican las moléculas y los compuestos descritos en la presente; o sistemas de células de mamífero (por ejemplo, células COS, CHO, BHK, 293, 293T, 3T3, células linfáticas (ver, la patente estadounidense n.º 5,807,715), células Per C.6 (células retinianas humanas desarrolladas por Crucell) que albergan construcciones de expresión recombinantes que contienen los promotores obtenidos a partir del genoma de células de mamífero (por ejemplo, promotor de metalotioneína) o a partir de virus de mamífero (por ejemplo, el promotor tardío del adenovirus; el promotor 7.5K del virus vacuna).

En los sistemas bacterianos, puede seleccionarse una cantidad de vectores de expresión de manera favorable dependiendo del uso previsto del compuesto que se expresa. Por ejemplo, cuando

se debe producir una gran cantidad de dicha proteína, para la generación de composiciones farmacéuticas de los compuestos descritos en la presente, pueden ser convenientes los vectores que dirigen la expresión de altos niveles de productos de
5 proteína de fusión que pueden purificarse fácilmente. Dichos vectores incluyen, de modo no taxativo, el vector de expresión pUR278 de *E. coli*. (Rüther et ál. (1983) "Easy Identification Of cDNA Clones," EMBO J. 2:1791-1794), en el cual la secuencia de codificación de anticuerpo puede estar ligada de manera
10 individual en el vector, en el mismo marco de lectura que la región de codificación de lac Z, de modo tal que se produzca una proteína de fusión; vectores pIN (Inouye et ál. (1985) "Up-Promoter Mutations In The lpp Gene Of Escherichia Coli," Nucleic Acids Res. 13:3101-3110; Van Heeke et ál. (1989)
15 "Expression Of Human Asparagine Synthetase In Escherichia Coli," J. Biol. Chem. 24:5503-5509); y similares. También pueden utilizarse vectores pGEX para expresar polipéptidos extraños como proteínas de fusión con glutatión S-transferasa (GST). En general, dichas proteínas de fusión son solubles y
20 pueden purificarse fácilmente a partir de células lisadas mediante adsorción y unión a una matriz de perlas de glutatión-agarosa, seguida de elución en presencia de glutatión libre. Los vectores pGEX se diseñan para incluir trombina o sitios de escisión de proteasa de factor Xa de forma tal que el producto

del gen objetivo clonado pueda liberarse del resto GST.

En un sistema de insectos, el virus de polihedrosis nuclear Autographa californica (AcNPV) se usa como un vector para
5 expresar genes extraños. El virus crece en células Spodoptera frugiperda. La secuencia de codificación puede clonarse de manera individual en regiones no esenciales (por ejemplo, el gen de polihedrina) del virus y colocarse bajo el control de un promotor de AcNPV (por ejemplo, el promotor de polihedrina).
10 En células hospedadoras de mamífero, puede utilizarse una cantidad de sistemas de expresión basados en virus. En los casos en los que se utiliza un adenovirus como vector de expresión, la secuencia de codificación de interés puede estar ligada a un complejo de control de la transcripción/traducción
15 del adenovirus, por ejemplo, el promotor tardío y la secuencia líder tripartita. Este gen quimérico se puede insertar luego en el genoma de adenovirus mediante recombinación *in vitro* o *in vivo*. La inserción en una región no esencial del genoma viral (por ejemplo, la región E1 o E3) producirá un virus
20 recombinante viable y capaz de expresar la molécula de la inmunoglobulina en hospedadores infectados (por ejemplo, ver Logan et ál. (1984) "Adenovirus Tripartite Leader Sequence Enhances Translation Of mRNAs Late After Infection," Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 81:3655-3659). También pueden necesitarse

señales de inicio específicas para la traducción eficaz de secuencias de codificación de anticuerpos insertadas. Estas señales incluyen el codón de inicio ATG y secuencias adyacentes. Además, el codón de inicio debe estar en la misma fase que el marco de lectura de la secuencia de codificación deseada para asegurar la traducción de toda la inserción. Estos codones de inicio y señales de control de traducción exógena pueden tener diversos orígenes, tanto naturales como sintéticos. La eficacia de la expresión puede potenciarse mediante la inclusión de elementos potenciadores de la transcripción y terminadores de la transcripción apropiados, etc. (véase, Bitter et ál., (1987) "Expression And Secretion Vectors For Yeast," Methods in Enzymol. 153:516-544).

Además, se puede elegir una cepa de célula hospedadora que modula la expresión de las secuencias insertadas o modifica y procesa el producto genético en la forma específica deseada. Tales modificaciones (por ejemplo, glicosilación) y procesamiento (por ejemplo, escisión) de productos de proteína pueden ser importantes para la función de la proteína. Por ejemplo, en determinadas modalidades, los compuestos descritos en la presente pueden expresarse como un único producto génico (por ejemplo, una única cadena de polipéptidos, es decir, como un precursor de poliproteína), que requiere escisión

proteolítica mediante mecanismos celulares recombinantes o naturales para formar polipéptidos separados de los compuestos descritos en la presente. Por lo tanto, la descripción comprende la modificación genética de una secuencia de ácidos nucleicos para codificar una molécula precursora de poliproteína que comprende los polipéptidos de los compuestos descritos en la presente, que incluye secuencias de codificación capaces de dirigir la escisión postraducciona

5 del precursor de poliproteína. La escisión postraducciona del precursor de poliproteína produce los polipéptidos de los compuestos descritos en la presente. La escisión postraducciona de la molécula precursora que comprende los polipéptidos de los compuestos descritos en la presente puede producirse *in vivo* (es decir, dentro de la célula hospedadora

10 mediante sistemas/mecanismos celulares recombinantes o naturales, por ejemplo, escisión de furina en un sitio adecuado) o puede producirse *in vitro* (por ejemplo incubación de dicha cadena de polipéptidos en una composición que comprende proteasas o peptidasas de actividad conocida y/o en

15 una composición que comprende condiciones o reactivos conocidos para promover la acción proteolítica deseada). En la técnica se conocen la purificación y la modificación de las proteínas recombinantes de modo tal que el diseño del precursor de poliproteína puede incluir una cantidad de modalidades

20

fácilmente comprendidas por un experto. Puede utilizarse cualquier proteasa o peptidasa conocida en la técnica para la modificación descrita de la molécula precursora, por ejemplo, trombina o el factor Xa (Nagai et ál. (1985) "Oxygen Binding Properties Of Human Mutant Hemoglobins Synthesized In Escherichia Coli," Proc. Nat. Acad. Sci. EUA 82:7252-7255, y revisado en Jenny et ál. (2003) A« Critical Review Of The Methods For Cleavage Of Fusion Proteins With Thrombin And Factor Xa», Protein Expr. Purif. 31:1-11, cada una de las cuales se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia)), enterocinasa (Collins-Racie et ál. (1995) "Production Of Recombinant Bovine" "Enterokinase Catalytic Subunit In Escherichia Coli Using The Novel Secretory Fusion Partner DsbA", Biotechnology 13:982-987, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia)), furina y AcTEV (Parks et ál. (1994) «Release Of Proteins And Peptides From Fusion Proteins Using A Recombinant Plant Virus Proteinase», Anal. Biochem. 216:413-417, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia)) y la proteasa C3 del virus de la enfermedad de la fiebre aftosa.

Las distintas células hospedadoras tienen características y mecanismos específicos para el procesamiento y la modificación postraducción de proteínas y productos genéticos. Las líneas

celulares o los sistemas hospedadores apropiados se pueden elegir de modo de asegurar la modificación y el procesamiento correctos de la proteína extraña. Con este fin, las células hospedadoras eucarióticas que poseen la maquinaria celular para el procesamiento adecuado de la transcripción primaria, glicosilación y fosforilación del producto genético se puede usar. Dichas células hospedadoras de mamífero incluyen, de modo no taxativo, CHO, VERY, BHK, Hela, COS, MDCK, 293, 293T, 3T3, WI38, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 y T47D, CRL7030 y Hs578Bst.

10

Para la producción de alto rendimiento a largo plazo de proteínas recombinantes se prefiere la expresión estable. Por ejemplo, pueden modificarse genéticamente líneas celulares que expresan de manera estable los compuestos descritos en la presente. En vez de utilizar vectores de expresión que contengan orígenes virales de replicación, las células hospedadoras se pueden transformar con ADN controlado por elementos de control de expresión adecuados (por ejemplo, promotor, potenciador, secuencias, terminadores de la transcripción, sitios de poliadenilación, etc.) y un marcador seleccionable. Luego de la introducción del ADN extraño, puede permitirse que las células modificadas crezcan durante 1-2 días en un medio enriquecido y luego cambiarlas a un medio selectivo. El marcador seleccionable en el plásmido

15
20

recombinante otorga resistencia a la selección y permite que las células integren de forma estable el plásmido en sus cromosomas y crezcan para formar focos que a su vez se pueden clonar y expandir en líneas celulares. Este método puede usarse
5 de manera favorable para modificar genéticamente las líneas celulares que expresan los compuestos descritos en la presente. Dichas líneas celulares modificadas pueden ser particularmente útiles en la detección y la evaluación de compuestos que interactúan directa o indirectamente con los compuestos
10 descritos en la presente.

Puede utilizarse una cantidad de sistemas de selección que incluyen, de modo no taxativo, la timidina cinasa del virus del herpes simple (Wigler et ál. (1977) «Transfer Of Purified
15 Herpes Virus Thymidine Kinase Gene To Cultured Mouse Cells», Cell 11: 223-232), hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (Szybalska et ál. (1992) "Use Of The HPRT Gene And The HAT Selection Technique In DNA-Mediated Transformation Of Mammalian Cells First Steps Toward Developing
20 Hybridoma Techniques And Gene Therapy", Bioessays 14: 495-500), y genes de adenina fosforribosiltransferasa (Lowy et ál. (1980) "Isolation Of Transforming DNA: Cloning The Hamster aprt Gene", Cell 22: 817-823), dichos genes pueden utilizarse en células tk-, hgpert- o aprt-, respectivamente. Además, puede utilizarse

la resistencia anti-metabolito como criterio de selección de los siguientes genes: dhfr, que otorga resistencia al metotrexato (Wigler et ál., (1980) "Transformation Of Mammalian Cells With An Amplifiable Dominant-Acting Gene", Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 77:3567-3570; O'Hare et ál. (1981) "Transformation Of Mouse Fibroblasts To Methotrexate Resistance By A Recombinant Plasmid Expressing A Prokaryotic Dihydrofolate Reductase," Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 78: 1527-1531); gpt, que otorga resistencia al ácido micofenólico (Mulligan et ál. (1981) "Selection For Animal Cells That Express The Escherichia coli Gene Coding For Xanthine-Guanine Phosphoribosyltransferase", Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 78: 2072-2076); neo, que otorga resistencia al aminoglicósido G-418 (Tolstoshev (1993) "Gene Therapy, Concepts, Current Triáis And Future Directions", Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596; Mulligan (1993) "The Basic Science Of Gene Therapy", Science 260:926-932; y Morgan et ál. (1993) "Human Gene Therapy", Ann. Rev. Biochem. 62:191-217) e hygro, que otorga resistencia a la higromicina (Santerre et ál. (1984) "Expression Of Prokaryotic Genes For Hygromycin B And G418 Resistance As Dominant-Selection Markers In Mouse L Cells", Gene 30:147-156). Los métodos comúnmente conocidos en la técnica de la tecnología de ADN recombinante que se pueden usar se describen en Ausubel et ál. (eds.), 1993, Current Protocols

in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY; Kriegler, 1990, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY; y en los capítulos 12 y 13, Dracopoli et ál. (eds), 1994, Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY.; Colberre-Garapin et ál. (1981) "A New Dominant Hybrid Selective Marker For Higher Eukaryotic Cells", J. Mol. Biol. 150:1-14.

Los niveles de expresión de los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente se pueden aumentar mediante la amplificación de vectores (para acceder a una revisión, ver Bebbington y Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells en DNA Cloning, Vol. 3. Academic Press, Nueva York, 1987). Cuando un marcador en el sistema que expresa un compuesto descrito en la presente es amplificable, el aumento en el nivel del inhibidor presente en el cultivo de una célula hospedadora aumentará la cantidad de copias del gen marcador. Debido a que la región amplificable se asocia a la secuencia de nucleótidos de un compuesto descrito en la presente o un polipéptido descrito en la presente, también aumentará la producción del polipéptido (Crouse et ál. (1983) "Expression And Amplification Of Engineered Mouse Dihydrofolate Reductase Minigenes", Mol. Cell. Biol. 3:257-

266).

La célula hospedadora puede transfectarse conjuntamente con dos vectores de expresión, de los cuales el primer vector
5 codifica el primer polipéptido de un compuesto descrito en la presente y el segundo vector codifica el segundo polipéptido de un compuesto descrito en la presente. Los dos vectores pueden contener marcadores seleccionables idénticos que permiten una expresión igual de ambos polipéptidos. De manera
10 alternativa, puede utilizarse un único vector que codifique ambos polipéptidos. Las secuencias de codificación para los polipéptidos de los compuestos descritos en la presente pueden comprender ADNc o ADN genómico.

15 Una vez que un compuesto descrito en la presente o un polipéptido descrito en la presente se haya expresado de manera recombinante, este puede purificarse mediante cualquier método conocido en la técnica para la purificación de polipéptidos, poliproteínas o anticuerpos (por ejemplo, análogos de los
20 esquemas de purificación de anticuerpos en función de la selectividad de antígenos), por ejemplo, mediante cromatografía (por ejemplo, cromatografía de intercambio de iones, mediante afinidad, particularmente, mediante afinidad para el antígeno específico (opcionalmente después de la

selección de proteína A en la que el compuesto comprende un dominio de Fe (o una parte de este)), y en columna por tamaño), centrifugación, solubilidad diferencial, o mediante cualquier otra técnica estándar para la purificación de polipéptidos o anticuerpos.

Otros aspectos de la descripción se refieren a una célula que comprende un ácido nucleico descrito en la presente o un vector descrito en la presente. La célula puede ser una célula procariota o eucariota. En algunas modalidades, la célula es una célula de mamífero. En la presente se describen tipos celulares ilustrativos.

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a un método para producir un compuesto descrito en la presente o un polipéptido descrito en la presente (por ejemplo, un primer polipéptido o un segundo polipéptido), donde el método comprende obtener una célula descrita en la presente y expresar un ácido nucleico descrito en la presente en dicha célula. En algunas modalidades, el método comprende además aislar y purificar un compuesto descrito en la presente o un polipéptido descrito en la presente.

Métodos de tratamiento y composiciones para su uso en la

medicina

Otros aspectos de la descripción se refieren a métodos de tratamiento y composiciones para su uso en la medicina. Los
5 ejemplos no taxativos de compuestos para uso en dichos métodos y composiciones son los que comprenden:

(i) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o

(ii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; o

15

(iii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; o

20 (iv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; o

(v) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:13 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14; o

(vi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:15 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:16; o

(vii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:17 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; o

(viii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:19 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20; o

15

(ix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:21 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22; o

20 (x) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:23 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24; o

(xi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:25 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26; o

(xii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27 y dicho segundo polipéptido
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28; o

(xiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; o

(xiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; o

15

(xv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

20 (xvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; o

(xvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:37 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38; o

(xviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:39 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; o

(xix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:41 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

(xx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:43 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44; o

15

(xxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:45 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

20 (xxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:47 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o

(xxiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:49 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

(xxiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:51 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; o

(xxv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:53 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

(xxvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:55 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

15

(xxvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:57 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

20 (xxviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:59 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

(xxix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:61 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

(xxx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

(xxxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

(xxxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

15

En algunas modalidades, el método de tratamiento o el uso es un método para tratar una enfermedad autoinmuntaria o inflamatoria o su uso en dicho método. En algunas modalidades, el método comprende administrar un compuesto descrito en la presente o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto a un sujeto, por ejemplo, un sujeto que padece, o en riesgo de padecer, una enfermedad autoinmuntaria o inflamatoria.

20

El sujeto que se tratará mediante los métodos descritos en la presente puede ser un mamífero, más preferentemente, un ser humano. Los mamíferos incluyen, de modo no taxativo, animales de granja, animales para deportes, mascotas, primates, caballos, perros, gatos, ratones y ratas. Un sujeto humano que necesita el tratamiento puede ser un sujeto humano que padece, en riesgo de padecer, o del cual se sospecha que padece, una enfermedad. Un sujeto que padece una enfermedad puede identificarse mediante exámenes médicos de rutina, por ejemplo, un examen físico, una prueba de laboratorio, una prueba funcional de los órganos, una tomografía computarizada o un ultrasonido. Un sujeto del cual se sospecha que padece cualquiera de dichas enfermedades puede mostrar uno o más síntomas de la enfermedad. Los signos y los síntomas de las enfermedades, por ejemplo, enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias, son conocidos por los expertos en la técnica. Un sujeto en riesgo de padecer la enfermedad puede ser un sujeto que presenta uno o más de los factores de riesgo de esa enfermedad.

20

Los ejemplos no taxativos de enfermedades autoinmunitarias incluyen lupus nefrítico (LN) (lupus eritematoso sistémico (SLE) con compromiso renal), lupus eritematosos sistémico (SLE), síndrome de Sjogren primario (pSS), enfermedad de

Sjorgren, enfermedad de injerto contra huésped (GVHD) (por ejemplo, enfermedad de injerto contra huésped crónica (cGVHD)), esclerosis sistémica (SSc), vasculitis asociada con anticuerpo autocitoplasma de neutrófilos (ANCA) (AAV), artritis reumatoide, soriasis, diabetes tipo 1, lupus eritematoso sistémico, rechazo al trasplante, enfermedad tiroide autoinmunitaria (enfermedad de Hashimoto), sacoidosis, escleroderma, vasculitis granulomatosa, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, enfermedad de Sjogren, espondilitis anquilosante, artritis soriática, dermatomiositis, polimiositis, poliateritis nodosa, enfermedades de la piel ampollares mediadas de forma inmunológica, síndrome de Behcet, esclerosis múltiple, enfermedad de Goodpasture o glomerulonefritis mediada por inmunidad.

15

Los ejemplos no taxativos de enfermedades inflamatorias incluyen, artritis reumatoide, psoriasis, lupus sistémico eritematoso, alopecia areata, espondilitis anquilosante, síndrome antifosfolípidos, enfermedad autoinmunitaria de Addison, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, enfermedad autoinmunitaria del oído interno, síndrome linfoproliferativo inmunitario (ALPS), púrpura trombocitopénica autoinmunitaria (ATP), enfermedad de Behcet, penfigoide bulloso, cardiomiopatía, celiaquía-dermatitis,

20

síndrome de inmunodeficiencia por fatiga crónica (CFIDS),
polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica,
penfigoide cicatricial, enfermedad de las aglutininas frías,
síndrome de Crest, enfermedad de Crohn, enfermedad de Dego,
5 dermatomiasitis, dermatomiositis - juvenil, lupus discoide,
crioglobulinemia esencial mixta, fibromialgia - fibromiositis,
enfermedad de Graves, enfermedad de guillain-barre, tiroiditis
de hashimoto, fibrosis pulmonar idiopática, púrpura
trombocitopénica idiopática (ITP), nefropatía por IgA,
10 diabetes insulino dependiente (Tipo I), artritis juvenil,
enfermedad de Meniere, enfermedad del tejido conjuntivo mixta,
esclerosis múltiple, miastenia grave, pénfigo vulgar, anemia
perniciosa, poliarteritis nodosa, policondritis, síndromes
poligrlandulares, polimialgia reumática, polimiositis y
15 dermatomiositis, agammaglobulinemia primaria, cirrosis biliar
primaria, psoriasis, fenómeno de Raynaud, síndrome de Reiter,
fiebre reumática, sarcoidosis, escleroderma, síndrome de
Sjogren, síndrome de la persona rígida, arteritis de Takayasu,
arteritis temporal/arteritis de células gigantes, colitis
20 ulcerosa, uveitis, vasculitis, vitíligo y granulomatosis de
Wegener. En algunas modalidades, la enfermedad autoinmunitaria
o inflamatoria es enfermedad de Crohn, espondilitis
anquilosante o artritis psoriásica.

Para poner en práctica un método descrito en la presente, puede administrarse una cantidad eficaz de un compuesto o composición farmacéutica descrito en la presente a un sujeto (por ejemplo, un ser humano) que necesita el tratamiento. Se conocen diversos sistemas de administración y pueden utilizarse para administrar los compuestos de la invención. Los métodos de administración incluyen, de modo no taxativo, las vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. Los compuestos de la tecnología objeto pueden administrarse, por ejemplo, mediante infusión, bolo o inyección y pueden administrarse junto con otros agentes biológicamente activos tales como agentes antiinflamatorios. La administración puede ser sistémica o local. En modalidades preferidas, la administración se realiza mediante inyección subcutánea. Las formulaciones para dichas inyecciones pueden prepararse, por ejemplo, en jeringas llenas previamente que pueden administrarse una vez cada dos semanas.

Una "cantidad eficaz", tal como se usa en la presente, se refiere a la cantidad de cada compuesto necesaria para otorgar un efecto terapéutico sobre el sujeto, ya sea solo o en combinación con uno o más de otros compuestos. Las cantidades eficaces varían, tal como lo reconocerán los expertos en la técnica, dependiendo de la afección particular que se trata,

la gravedad de la afección, los parámetros del sujeto individual que incluyen, edad, condición física, talla, género, peso, la duración del tratamiento, la naturaleza de la terapia actual (si la hubiere), la vía de administración específica y factores similares dentro del conocimiento y la experiencia del profesional de la salud. Estos factores son conocidos para los expertos en la técnica y pueden abordarse únicamente mediante el uso de la experimentación habitual. Generalmente, se prefiere que se utilice una dosis máxima de los componentes individuales o combinaciones de estos, es decir, la mayor dosis segura de acuerdo con la opinión médica bien fundada. Los expertos en la técnica comprenderán, sin embargo, que un sujeto puede insistir con una dosis menor o una dosis tolerable por razones médicas, razones psicológicas o virtualmente por cualquier otra razón.

Las consideraciones empíricas, tales como la semivida, generalmente contribuirán con la determinación de la dosificación. Por ejemplo, pueden utilizarse compuestos compatibles con el sistema inmunitario humano, tales como los compuestos que comprenden regiones de anticuerpos humanizados o anticuerpos humanos completos, para prolongar la semivida del compuesto y para impedir que el compuesto sea atacado por el sistema inmunitario del hospedador. La frecuencia de

administración puede determinarse y ajustarse durante el transcurso de la terapia y, generalmente, pero no necesariamente, se basa en el tratamiento y/o la supresión y/o mejora y/o demora de una enfermedad. De manera alternativa, pueden ser apropiadas las formulaciones de liberación continua sostenida. En la técnica se conocen diversas formulaciones y dispositivos para lograr la liberación sostenida.

En algunas modalidades, la dosificación es diaria, cada dos días, cada tres días, cada cuatro días, cada cinco días o cada seis días. En algunas modalidades, la frecuencia de dosificación es todas las semanas, cada 2 semanas, cada 4 semanas, cada 5 semanas, cada 6 semanas, cada 7 semanas, cada 8 semanas, cada 9 semanas o cada 10 semanas; o una vez al mes, cada 2 meses o cada 3 meses o mayor. La evolución de esta terapia puede monitorearse fácilmente mediante ensayos y técnicas convencionales. El régimen de dosificación (que incluye el compuesto utilizado) puede variar con el transcurso del tiempo.

20

En algunas modalidades, para un sujeto adulto de peso normal, pueden administrarse dosis que oscilan de alrededor de 0.01 a 1000 mg/kg. En algunas modalidades, la dosis es de entre 1 a 200 mg. El régimen de dosificación particular, es decir, la

dosis, la sincronización y la repetición, dependerá del sujeto particular y el historial médico de dicho sujeto, así como de las propiedades del compuesto (tal como la semivida del compuesto y otras consideraciones conocidas en la técnica).

5

A los efectos de la presente descripción, la dosificación adecuada de un compuesto tal como se describe en la presente dependerá del compuesto específico empleado (o las composiciones de este), la formulación y la vía de administración, el tipo y la gravedad de la enfermedad, si el compuesto se administra a efectos preventivos o terapéuticos, la terapia previa, el historial clínico del sujeto y la respuesta al antagonista, y el criterio del médico tratante. Usualmente, el médico administrará un compuesto hasta alcanzar una dosificación que logre el resultado deseado. La administración de uno o más compuestos puede ser continua o intermitente, dependiendo, por ejemplo, de la condición fisiológica del receptor, de si el objetivo de la administración es terapéutico o profiláctico, y de otros factores conocidos para los profesionales expertos. La administración de un compuesto puede ser esencialmente continua durante un período de tiempo preseleccionado o puede ser en una serie de dosis separadas, por ejemplo, ya sea antes, durante o después del desarrollo de una enfermedad.

10
15
20

Tal como se usa en la presente, el término «tratar» se refiere a la aplicación o la administración de un compuesto o una composición que incluye el compuesto a un sujeto que padece una enfermedad, un síntoma de la enfermedad o una predisposición a la enfermedad, a los efectos de curar, sanar, aliviar, mitigar, alterar, recuperar, mejorar o afectar la enfermedad, el síntoma de la enfermedad o la predisposición a la enfermedad.

Aliviar una enfermedad incluye retrasar el desarrollo o la evolución de la enfermedad o reducir la gravedad de la enfermedad. Aliviar la enfermedad no requiere necesariamente resultados curativos. Tal como usa en la presente, "retrasar" el desarrollo de una enfermedad significa diferir, dificultar, enlentecer, demorar, estabilizar y/o posponer la evolución de la enfermedad. Esta demora puede tener extensiones de tiempo variables, dependiendo del historial de la enfermedad y/o el individuo en tratamiento. Un método que "retrasa" o alivia el desarrollo de una enfermedad, o retrasa la aparición de la enfermedad, es un método que reduce la probabilidad de desarrollar uno o más síntomas de la enfermedad en un marco de tiempo dado y/o reduce la extensión de los síntomas en un marco de tiempo dado, en comparación con el no uso del método. Dichas comparaciones se basan usualmente en estudios clínicos, que

utilizan una cantidad de sujetos suficiente para proporcionar un resultado estadísticamente significativo.

"Desarrollo" o "evolución" de una enfermedad significa las manifestaciones iniciales y/o la subsiguiente evolución de la enfermedad. El desarrollo de la enfermedad puede detectarse y evaluarse mediante el uso de técnicas clínicas estándar, tal como se conoce en la técnica. Sin embargo, el desarrollo también se refiere a la evolución de que puede ser indetectable. A los efectos de la presente descripción, el desarrollo o la evolución se refieren al transcurso biológico de los síntomas. El "desarrollo" incluye la ocurrencia, recurrencia y aparición. Tal como se usa en la presente, la "aparición" o la "ocurrencia" de una enfermedad incluye la aparición inicial y/o la recurrencia.

En algunas modalidades, el compuesto descrito en la presente se administra a un sujeto que necesita el tratamiento en una cantidad suficiente para inhibir la actividad de uno o ambos de BAFF o IL23A mediante al menos 20 % (por ejemplo, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más) in vivo o in vitro. Los métodos para determinar la capacidad inhibidora de un compuesto son conocidos en la técnica. En los Ejemplos se proporcionan ensayos de inhibición de BAFF e IL23A

ilustrativos.

Pueden utilizarse métodos convencionales, conocidos por los expertos en la técnica de la medicina, para administrar el compuesto o la composición farmacéutica al sujeto, dependiendo del tipo de enfermedad que se tratará o el sitio de la enfermedad. Esta composición también puede administrarse mediante otras vías convencionales, por ejemplo, mediante administración oral, parenteral, inhalación de atomización, tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o mediante un depósito implantado. Tal como se usa en la presente, el término "parenteral" incluye técnicas de inyección o infusión subcutáneas, intracutáneas, intravenosas, intramusculares, intraarticulares, intraarteriales, intrasinoviales, intraesternales, intratecales, intralesionales e intracraneales. Además esta puede administrarse al sujeto mediante vía de administración de depósito inyectable tal como mediante el uso de métodos y materiales biodegradables o inyectables con un depósito de 1, 3 o 6 meses.

20

Composiciones farmacéuticas

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto

descrito en la presente. Puede administrarse una composición que comprende un compuesto de la tecnología sujeto (por ejemplo, compuestos específicos para BAFF e IL23A) a un sujeto que padece o se encuentra en riesgo de padecer una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria. La tecnología objeto proporciona además el uso de un compuesto de la tecnología sujeto en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria. Los compuestos pueden administrarse solos o en combinación con otras composiciones en la prevención o el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria. Los ejemplos no taxativos de los compuestos de la tecnología sujeto para su uso en dichas composiciones farmacéuticas son los que comprenden:

15

(i) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o

20

(ii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; o

(iii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:9 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; o

(iv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11 y dicho segundo polipéptido
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; o

(v) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14; o

(vi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:15 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:16; o

15

(vii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; o

(viii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19 y dicho segundo polipéptido
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20; o

(ix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:21 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22; o

(x) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23 y dicho segundo polipéptido
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24; o

(xi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26; o

(xii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28; o

15

(xiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; o

20 (xiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; o

(xv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:33 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

(xvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:35 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; o

(xvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:37 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38; o

(xviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:39 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; o

15

(xix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:41 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

20 (xx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:43 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44; o

(xxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:45 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

(xxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:47 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o

(xxiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:49 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

(xxiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:51 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; o

15

(xxv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:53 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

20 (xxvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:55 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

(xxvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:57 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

(xxviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

(xxix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

(xxx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

(xxxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

(xxxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

Tal como se usa en la presente, la expresión "composición

farmacéutica" se refiere a la formulación de un compuesto descrito en la presente en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede comprender además agentes adicionales (por ejemplo, para su
5 administración específica, para aumentar la semivida u otros compuestos terapéuticos).

Tal como se usa en la presente, la expresión "portador farmacéuticamente aceptable", se refiere a un material, una
10 composición o un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un relleno sólido o líquido, diluyente, excipiente, auxiliar de fabricación (por ejemplo, lubricante, magnesio en talco, estearato de cinc o calcio o ácido esteárico) material de encapsulación de solvente, implicado en el transporte o el
15 traslado del compuesto desde un sitio del cuerpo (por ejemplo, el sitio de administración) hacia otro sitio (por ejemplo, órgano, tejido o parte del cuerpo). Un portador farmacéuticamente aceptable es "aceptable" en el sentido de que es compatible con los otros ingredientes de la formulación
20 y de que no daña el tejido del sujeto (por ejemplo, fisiológicamente compatible, estéril, pH fisiológico, etc.). Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tal como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones,

tales como almidón de maíz y almidón de papa; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, etilcelulosa, celulosa microcristalina y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) 5 gelatina; (7) agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, lauril sulfato de sodio y talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras supositorias; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite 10 de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol (PEG); (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) ágar; (14) agentes amortiguadores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido 15 de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógeno; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones amortiguadoras de pH; (21) poliésteres, policarbonatos y/o polianhídridos; (22) agentes espesantes, tales como polipéptidos y aminoácidos; (23) 20 componente en suero, tal como albúmina en suero, HDL y LDL; (22) alcoholes C2-C12, tal como etanol y (23) otras sustancias compatibles no tóxicas, como composiciones utilizadas en formulaciones farmacéuticas. En la formulación, también pueden estar presentes agentes humectantes, agentes colorantes,

agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes endulzantes, agentes saborizantes, agentes perfumantes, conservantes y antioxidantes. Las expresiones tales como "excipiente", "portador", "portador farmacéuticamente
5 aceptable" o similares se utilizan en forma indistinta en la presente.

En algunas modalidades, se administra un compuesto de la tecnología sujeto en una composición mediante inyección, por
10 medio de un catéter, por medio de un supositorio o por medio de un implante, donde el implante es de un material poroso, no poroso o gelatinoso, que incluye una membrana, tal como una membrana sikalastic, o una fibra. Típicamente, cuando se administra la composición, los materiales se utilizan
15 materiales que no absorben el compuesto de la tecnología sujeto.

En otras modalidades, los compuestos de la tecnología sujeto se administran en un sistema de liberación controlada. En una
20 modalidad, puede utilizarse una bomba (ver, por ejemplo, Langer, 1990, Science 249:1527-1533; Sefton, 1989, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201; Buchwald et ál., 1980, Surgery 88:507; Saudek et ál., 1989, N. Engl. J. Med. 321:574). En otra modalidad, pueden utilizarse materiales poliméricos. (Ver, por

ejemplo, Medical Applications of Controlled Release (Langer y Wise eds., CRC Press, Boca Ratón, Fla., 1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance (Smolen y Ball eds., Wiley, Nueva York, 1984); Ranger y Peppas, 1983, 5 Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61. Ver, también, Levy et ál., 1985, Science 228:190; During et ál., 1989, Ann. Neurol. 25:351; Howard et ál., 1989, J. Neurosurg. 71:105). Otros sistemas de liberación controlada se describen, por ejemplo, en Langer, supra.

10

Los compuestos de la tecnología sujeto pueden administrarse como composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de unión y uno o más ingredientes farmacéuticamente compatibles.

15

En modalidades típicas, la composición farmacéutica se formula de acuerdo con procedimientos de rutina como una composición farmacéutica adaptada para la administración intravenosa o subcutánea a un sujeto, por ejemplo, un ser humano. Usualmente, 20 las composiciones para administración mediante inyección son soluciones en un amortiguador acuoso isotónico estéril. En los casos que sea necesario, el producto farmacéutico también puede incluir un agente solubilizante y un anestésico local tal como lignocaína para aliviar el dolor en el sitio de inyección. En

general, los ingredientes se proporcionan ya sea por separado o mezclados juntos en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado o un concentrado sin agua en un recipiente sellado herméticamente tal como una ampolla o sachet que indique la cantidad de agente activo. En los casos en los que el producto farmacéutico deba administrarse por infusión, puede dosificarse con un frasco de infusión que contenga agua de grado farmacéutico estéril o solución salina. En los casos en los que el producto farmacéutico se administre por inyección, puede proporcionarse una ampolla de agua esterilizada para inyección o solución salina de modo tal que los ingredientes puedan mezclarse antes de la administración.

Una composición farmacéutica para administración sistémica puede ser un líquido, por ejemplo, solución salina estéril, solución de Hank o Ringer lactada. Además, la composición farmacéutica puede encontrarse en forma sólida y volver a disolverse o suspenderse inmediatamente antes de utilizarse. También se contemplan las formas liofilizadas.

20

La composición farmacéutica puede estar contenida dentro de una vesícula o partícula lipídica, tal como un liposoma o microcristal, que también es adecuado para la administración parenteral. Las partículas pueden tener cualquier estructura

adecuada, tal como unilamelares o plurilamelares, siempre que las composiciones se encuentren contenidas en estas. Los compuestos pueden estar atrapados en "partículas lipídicas de plásmido estabilizadas" (SPLP) que contienen el lípido fusogénico dioleoilfosfatidiletanolamina (DOPE), bajos niveles (5-10 mol%) de lípido catiónico, y se encuentran estabilizadas con un recubrimiento de polietilenglicol (PEG) (Zhang Y. P. et ál., Gene Ther. 1999, 6:1438-47). Dichas vesículas o partículas prefieren particularmente los lípidos cargados positivamente, tales como N-[1-(2,3-dioleoiloxi)propil]-N,N,N-trimetil-amoniometilsulfato, o "DOTAP". La preparación de dichas partículas de lípidos es ampliamente conocida. Véase, por ejemplo, las patentes estadounidenses N.º 4.880.635; 4.906.477; 4.911.928; 4.917.951; 4.920.016 y 4.921.757.

Las composiciones farmacéuticas de la presente descripción pueden administrarse o envasarse como una dosis unitaria, por ejemplo. La expresión "dosis unitaria", cuando se utiliza en referencia a una composición farmacéutica de la presente descripción, se refiere a unidades separadas físicamente adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto, en las que cada unidad contiene una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico

deseado, junto con el diluyente necesario, es decir, portador o vehículo.

En algunas modalidades, un compuesto descrito en la presente
5 puede estar conjugado con un resto terapéutico, por ejemplo, un agente antiinflamatorio. Las técnicas para conjugar dichos restos terapéuticos con polipéptidos, que incluyen dominios Fc, son conocidas; ver, por ejemplo, Amon et ál., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cáncer Therapy", en
10 Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et ál. (eds.), 1985, págs. 243-56, Alan R. Liss, Inc.); Hellstrom et ál., "Antibodies For Drug Delivery", en Controlled Drug Delivery (2ª Ed.), Robinson et ál. (eds.), 1987, págs. 623-53, Marcel Dekker, Inc.); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic
15 Agents In Cáncer Therapy: A Review", en Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pinchera et ál. (eds.), 1985, págs. 475-506); !Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cáncer Therapy", en Monoclonal Antibodies For Cancer Detection
20 And Therapy, Baldwin et ál. (eds.), 1985, págs. 303-16, Academic Press; y Thorpe et ál. (1982) "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates", Immunol. Rev., 62:119-158.

Además, la composición farmacéutica puede proporcionarse como un kit farmacéutico que comprende (a) un recipiente que contiene el compuesto de la tecnología sujeto en una forma liofilizada y (b) un segundo recipiente que contiene un diluyente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua esterilizada) para inyección. El diluyente farmacéuticamente aceptable puede utilizarse para la reconstrucción o la dilución del compuesto liofilizado de la tecnología sujeto. En asociación con dicho o dichos recipientes se puede incluir una nota de la forma prescrita por un organismo gubernamental que regule la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos o biológicos, que refleje la aprobación por parte del organismo con respecto a la fabricación, el uso o la venta para administración a humanos.

15

En otro aspecto, se incluye un artículo de fabricación que contiene materiales útiles para el tratamiento de las enfermedades descritas anteriormente. En algunas modalidades, el artículo de fabricación comprende un recipiente y una etiqueta. Los contenedores adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringas y tubos de ensayo. Los contenedores se podrán formar a partir de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico. En algunas modalidades, el recipiente contiene una composición que es eficaz para el tratamiento de

20

una enfermedad descrita en la presente y puede tener un puerto de acceso esterilizado. Por ejemplo, el recipiente puede tener un vial o una bolsa de solución intravenosa con un tapón que pueda perforarse con una aguja de inyección hipodérmica. El agente activo en la composición es un compuesto de la tecnología sujeto. En algunas modalidades, la etiqueta que se encuentra en el recipiente o se asocia a este indica que la composición se utiliza para tratar la enfermedad elegida. El artículo de fabricación puede comprender además un segundo contenedor que comprende un amortiguador farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer o solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde el punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros amortiguadores, diluyentes, filtros, agujas, jeringas y prospectos con instrucciones de uso.

Sin ahondar en detalles, se cree que un experto en la técnica puede, en función de la descripción anterior, utilizar la presente descripción en la mayor medida posible. Las siguientes modalidades específicas se interpretarán, por lo tanto, como meramente ilustrativas, y no se limitan al resto de la descripción de ningún modo. Todas las publicaciones citadas en la presente se incorporan mediante referencia a los efectos de

la materia a la que se hace referencia en la presente.

EJEMPLOS

5 Ejemplo 1. Construcción de compuestos ilustrativos que se dirigen a IL23A y BAFF

Los compuestos de la tecnología sujeto se produjeron mediante métodos recombinantes conocidos en la técnica (ver, por
10 ejemplo, las publicaciones de PCT WO 2006/113665, WO 2008/157379 y WO 2010/080538, los contenidos de las cuales se incorporan a la presente mediante referencia). La Tabla 2A a continuación proporciona compuestos ilustrativos que se unen a IL23A y BAFF que se utilizaron en los Ejemplos siguientes. En
15 resumen, los plásmidos que codifican el primer y el segundo polipéptido para cada compuesto se transfectaron juntos en células CHO-S mediante el uso del reactivo FreeStyle MAX (CHO). Las células se cultivaron durante 13-14 días y los compuestos producidos por las células se purificaron mediante el uso de
20 cromatografía de proteína A. Los compuestos se purificaron adicionalmente mediante el uso de cromatografía de exclusión por tamaño.

Tabla 2A. Compuestos de unión a IL23A y BAFF ilustrativos

ID del Compu esto	vL de cadena larga	vH de cadena larga	vL de cadena corta	vH de cadena corta	3.er o 4° tipo de enlazador	Isotipo de dominio constante	SEQ ID NO: (1.er/ 2° polipé ptido)
Compu esto E	BAFF (1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (1) VH (SEQ ID NO:1)	LGGGSG (SEQ ID NO:70)	IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:128)	5/6
Compu esto V	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF (1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO:70)	IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:128)	7/8
Compu esto U	BAFF (1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (1) VH (SEQ ID NO:1)	E (C-1) (SEQ ID NO:82) , K-coil (C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc-IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:129)	9/10

Compu esto T	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF (1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	E (C-1) (SEQ ID NO:82) , K- coil (C -1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:129)	11/12
Compu esto X	BAFF (1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1)) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (1)) VH (SEQ ID NO:1)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	13/14
Compu esto F	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF (1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	15/16
Compu esto W	BAFF (1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1)) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (1)) VH (SEQ ID NO:1)	E (C-1) (SEQ ID NO:82) , K- coil (C -1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	17/18

Compu esto S	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF(1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF(1)) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C- 1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	19/2 0
Compu esto G	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	21/2 2
Compu esto AA	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C- 1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:129)	23/2 4
Compu esto I	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	25/2 6

Compu esto AB	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C- 1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:129)	27/2 8
Compu esto K	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	29/3 0
Compu esto AC	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C- 1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:129)	31/3 2
Compu esto M	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	33/3 4

Compu esto AD	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C- 1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	35/3 6
Compu esto C	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	37/3 8
Compu esto AE	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A(1)) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C -1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:129)	39/4 0
Compu esto D	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A(1)) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	41/4 2

Compu esto AF	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C -1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	43/4 4
Compu esto A	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	45/4 6
Compu esto AG	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C -1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:129)	47/4 8
Compu esto B	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:74)	49/5 0

Compu esto AH	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	E (C-1) (SEQ ID NO:82) , K- coil (C -1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	51/5 2
Compu esto H	BAFF (4) VL (SEQ ID NO:85)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	53/5 4
Compu esto J	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:74)	55/5 6
Compu esto L	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	57/5 8
Compu esto N	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:74)	59/6 0
Compu esto O	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	61/6 2

Compu esto P	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:74)	63/64
Compu esto Q	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	65/66
Compu esto R	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:74)	67/68

VL = cadena ligera de dominio variable, VH = cadena pesada de dominio variable, cada cadena comprende el enlazador GGGSGGG (SEQ ID NO:69) entre la VL y el VH.

- 5 También se utilizaron anticuerpos de control con fines de comparación. Los controles fueron anticuerpos monoclonales que se dirigían a BAFF o IL23.

Tabla 2B. Anticuerpos/antagonistas de control

Compuestos de control	Secuencia	
Anticuerpo de control 1 (anticuerpo monoclonal anti-BAFF) (BAFF (1))	BAFF(1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF(1) VL (SEQ ID NO:2)
Antagonista de proteína de fusión de control 2 (antagonista selectivo de BAFF que no es un anticuerpo) (BAFF (2))	BAFF(2) (SEQ ID NO:131)	
Anticuerpo de control 3 (anticuerpo monoclonal anti-BAFF) (BAFF (3))	BAFF(3) VH (SEQ ID NO:132)	BAFF(3) VL (SEQ ID NO:133)
Anticuerpo de control 4 (anticuerpo monoclonal anti-IL-23A) (IL-23A (1))	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)

Ejemplo 2: Estabilidad térmica de los compuestos

Métodos

5

Se monitoreó el despliegue térmico y la agregación de soluciones de los compuestos de 2 mg/ml en amortiguador de fosfato de 20 °C a 110 °C a una velocidad de barrido de 60 °C/h mediante DSC capilar automático (MicroCal, LLC, Boston). Se

10 llevaron a cabo dos barridos con el amortiguador

correspondiente para establecer el historial térmico del instrumento y obtener el punto de referencia del instrumento para cada muestra, con el promedio de estos barridos sustraído del termograma de proteína posterior para obtener la capacidad 5 térmica aparente. Luego, se analizaron los barridos normalizados con Origin 7.0. Los puntos de referencia previos a la transición se sustrajeron de cada termograma de capacidad térmica resultante para proporcionar la capacidad térmica excedente resultante ($C_{p,ex}$) en función de la temperatura. Los 10 valores indicados de las temperaturas de transición (T_m) representan las posiciones de los picos máximos determinados mediante inspección visual de los termogramas experimentales.

Resultados

15

Los resultados se muestran en la Tabla 3. Los datos muestran que los compuestos de ejemplo que se dirigen a IL23A y BAFF tienen un intervalo de temperaturas de transición para el primer pico (T_{m1}), que varía de 51.59 a 71.25°C. Los resultados 20 son sorprendentes porque todos los compuestos de ejemplo tuvieron la misma estructura general y contuvieron las mismas secuencias de gen de VH y VL que se dirigen a IL-23A. Los compuestos con temperaturas de transición superiores son más estables y se previó que tengan una vida útil más larga.

Tabla 3. Temperaturas de transición de despliegue térmico para los compuestos

ID del Compuesto	T _{m1} (°C)	T _{m2} (°C)
Compuesto A	69.35	83.63
Compuesto B	65.87	--
Compuesto C	67.89	82.36
Compuesto D	64.93	--
Compuesto E	51.59	68.8
Compuesto F	52.75	64.48
Compuesto G	70.88	83.21
Compuesto H	71.25	83.62
Compuesto I	67.83	--
Compuesto J	68.26	--
Compuesto K	68.33	83.23
Compuesto L	68.3	82.58
Compuesto M	64.98	--
Compuesto N	65.52	--
Compuesto O	67.79	83.85
Compuesto P	65.09	--
Compuesto Q	69.19	81.9
Compuesto R	65.97	--
Compuesto X	52.36	64.53

Ejemplo 3. Afinidad mediante resonancia de plasmones superficiales (SPR) de los ejemplos ilustrativos

Se analizaron los compuestos de prueba mediante SPR para
5 determinar la afinidad para BAFF e IL23A.

Materiales y métodos:

Los experimentos de SPR se llevaron a cabo en un instrumento
10 ProteOn XPR36 (Bio Rad). Se acondicionó previamente un chip de GLM con inyecciones secuenciales de 60 s de SDS al 0.5 %, NaOH 50 mM y HCl 100 mM una velocidad de flujo de 30 μ l/min en dirección vertical y horizontal.

15 Luego, se activó el chip de GLM acondicionado previamente mediante una inyección de una mezcla de EDC (76.7 mg/ml) y sulfo-NHS (21.7 mg/ml) en una relación de 1:1 en 6 canales horizontales. Se inmovilizó el Fc de IgG de cabra anti-humano (GAHA) gamma (Invitrogen) a una concentración de 30 μ g/ml en
20 amortiguador de acetato de sodio 10 mM, pH 5.0 a 8000 unidades de resonancia en el chip GLM activado en 6 canales horizontales. Finalmente, se desactivó el chip con HCl de etanolamina 1 M en 6 canales horizontales. El chip de GAHA preparado se rotó a una dirección vertical para capturar los

compuestos de prueba, con respecto a 5 canales verticales y el último canal se utilizó como una columna de referencia.

Luego, el chip capturado se rotó nuevamente hacia la dirección horizontal para su unión. Se inyectaron IL-23 humanas unidas (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc) con cinco concentraciones, 10.0 nM, 5.00 nM, 2.50 nM, 1.25 nM y 0.625 nM, de manera horizontal con respecto a las superficies de los compuestos de prueba durante 10 minutos a una velocidad de flujo de 40 μ l/min en el siguiente amortiguador de ejecución (Bio Rad): solución salina amortiguada con fosfato (pH 7.4), Tween 20 al 0.005 %. Se permitió la disociación durante 2 horas. La superficie de GAHA se regeneró mediante el uso de inyección de pulso corto (18 segundos) de ácido fosfórico al 0.85 % (Bio Rad) a una velocidad de flujo de 100 μ l/min tanto en dirección horizontal como vertical después de una asociación de 10 min y una disociación de 2 h. La GAHA regenerada estaba lista para otro ciclo de unión. La unión de compuestos de IL23 cynomolgus, BAFF humano o BAFF de cynomolgus se llevó a cabo en una forma similar, pero las concentraciones de titulación para la unión al BAFF humano o BAFF de cynomolgus son 6.25 nM, 3.12 nM, 1.56 nM, 0.78 nM y 0.39 nM.

Resultados:

Los resultados en la Tabla 4 muestran que ambos compuestos evaluados fueron capaces de unirse a BAFF e IL23 con una constante de disociación (KD) en el intervalo picomolar.

5 Tabla 4. Afinidad de unión de los compuestos a BAFF e IL23

ID del Compuesto	KD para BAFF humana (pM)	KD para BAFF de cynomolgus (pM)	KD para IL23 humana (pM)	KD para IL23 de cynomolgus (pM)
Compuesto A	< 15	< 15	< 15	< 15
Compuesto B	< 15	< 15	< 15	< 15
Compuesto C	< 15	< 15	< 15	< 15
Compuesto D	< 15	< 15	< 15	< 15
Compuesto E	< 15	< 15	< 15	< 15
Compuesto F	< 15	< 15	< 15	< 15

Ejemplo 4. Inhibición de activación de NFkB inducida por un trímero de BAFF de cynomolgus y humano en células informantes

de luciferasa BAFFR-CHO*Materiales/métodos:*

5 En resumen, las células informantes de luciferasa nFkB BAFFR
CHO humanas se recolectan, se lavan, se cuentan y se
resuspenden en una concentración de 1.6×10^6 células por ml
en un medio de ensayo (AM) de penicilina/estreptomicina al 1 %
(v/v) en X-VIVO15, un medio libre de suero definido
10 químicamente (Lonza). El trímero de BAFF humano o de cynomolgus
recombinante (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) se
preparó en una concentración única (52 pM) en AM y se
preincubaron con AM solo o con titulaciones seriales del
compuesto de prueba durante 30 minutos a 37 °C, CO₂ al 5 % en
15 una incubadora humidificada. Luego de la preincubación de BAFF
+ compuesto de prueba, se agregaron 50 ul de la o las mezclas
a 50 ul de las células y la placa de prueba se incubó
adicionalmente a 37 °C (como se describe) durante 24 horas.
Las muestras de control recibieron AM (controles sin
20 estimulación) o un trímero de BAFF recombinante diluido en AM
(controles con estimulación). Luego de 24 horas de incubación,
la suspensión celular se trató con el reactivo STEADY-Glo 100
ul (Promega), siguiendo las instrucciones del fabricante, y se
sometió a ensayo para la expresión de luciferasa. Las unidades

de luminiscencia relativas (RLU) resultantes se graficaron contra la concentración nanomolar Log10 del compuesto de prueba, donde los valores IC₅₀ e IC₉₀ se calcularon mediante el uso de un modelo logístico de 4 parámetros, soportado por el complemento Xlfit de Excel (ID Business Solutions Limited). Los valores de IC₅₀ e IC₉₀ del compuesto de prueba se calcularon como se describen anteriormente y Geomeans se calcularon a través de múltiples experimentos y se muestran en la Tabla 5 y Tabla 6.

Resultados:

Los compuestos de prueba inhibieron, de forma dependiente de la dosis, la activación de NFkB inducida por el trímero de BAFF humano y de cynomolgus en células informantes de luciferasa BAFFR-CHO. Los resultados ilustrados en la Tabla 5 y 6 indican que los valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para los compuestos de prueba fueron comparables o más potentes que los antagonistas de BAFF de control.

Tabla 5: Valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para la inhibición del trímero de BAFF humano en células informantes BAFFR-CHO

ID del Compuesto	IC50 (pM)	IC90
------------------	-----------	------

		(pM)
Compuesto A	43	180
Compuesto B	39	256
Compuesto C	35	110
Compuesto D	34	172
Compuesto F	72	293
Compuesto O	27	119
Compuesto P	19	88
Compuesto Q	26	108
Compuesto R	30	139
Compuesto X	106	361
Anticuerpo de control 1 (BAFF (1))	232	743
Antagonista de proteína de fusión de control 2 (BAFF (2))	173	914
Anticuerpo de control 3 (BAFF (3))	70	417

Tabla 6: Valores de la media geométrica IC_{50} e IC_{90} para la inhibición del trímero de BAFF de cynomolgus en células informantes BAFFR-CHO

ID del Compuesto	pM de la media	pM de la media
-------------------------	---------------------------	---------------------------

	geométrica IC₅₀	geométrica IC₉₀
Compuesto A	132	191
Compuesto B	132	295
Compuesto D	118	248
Anticuerpo de control 1 (BAFF (1))	288	635
Antagonista de proteína de fusión de control 2 (BAFF (2))	602	1089
Anticuerpo de control 3 (BAFF (3))	257	588

Ejemplo 5. Inhibición de activación de NFkB inducida por un
trímero de BAFF humano en células informantes de luciferasa
TACI-CHO

5

Materiales/métodos:

En resumen, las células informantes de luciferasa nFkB TACI
CHO humanas se recolectan, se lavan, se cuentan y se
10 resuspenden en una concentración de 1.6×10^6 células por ml
en un medio de ensayo (AM) de penicilina/estreptomicina al 1 %
(v/v) en X-VIVO15, un medio libre de suero definido

químicamente (Lonza). El trímero de BAFF humano recombinante (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) se preparó en una concentración única (222 pM) en AM y se preincubaron con AM solo o con titulaciones seriales del compuesto de prueba durante 30 minutos a 37 °C, CO₂ al 5 % en una incubadora humidificada. Luego de la preincubación de BAFF + compuesto de prueba, se agregaron 50 ul de la o las mezclas a 50 ul de las células y la placa de prueba se incubó adicionalmente a 37 °C (como se describe) durante 24 horas. Las muestras de control recibieron AM (controles sin estimulación) o un trímero de BAFF humano recombinante diluido en AM (controles con estimulación). Luego de 24 horas de incubación, la suspensión celular se trató con el reactivo STEADY-Glo 100 ul (Promega), siguiendo las instrucciones del fabricante, y se sometió a ensayo para la expresión de luciferasa. Las unidades de luminiscencia relativas (RLU) se graficaron contra la concentración nanomolar Log₁₀ del compuesto de prueba, donde los valores IC₅₀ e IC₉₀ se calcularon mediante el uso de un modelo logístico parámetro 4, soportado por el complemento Xlfit de Excel (ID Business Solutions Limited). Los valores de IC₅₀ e IC₉₀ del compuesto de prueba se calcularon como se describen anteriormente y Geomeans se calcularon a través de múltiples experimentos y se muestran en la Tabla 7.

Resultados:

Los compuestos de prueba inhibieron, de forma dependiente de la dosis, la activación de NFkB inducida por el trímero de BAFF humano en células informantes de luciferasa TACI-CHO. Los resultados ilustrados en la Tabla 7 indican que los valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para el compuesto de prueba fueron comparables a o más potentes que los antagonistas de BAFF de control.

10

Tabla 7: Valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para la inhibición del trímero de BAFF humano en células informantes TACI-CHO

ID del Compuesto	pM de la media geométrica IC ₅₀	pM de la media geométrica IC ₉₀
Compuesto A	159	417
Compuesto B	159	510
Compuesto D	163	436
Anticuerpo de control 1 (BAFF (1))	273	576
Antagonista de proteína de fusión de control 2	829	1945

(BAFF (2))		
Anticuerpo de control 3 (BAFF (3))	241	618

Ejemplo 6. Inhibición de activación de NFkB inducida por un 60mer de BAFF en células informantes de luciferasa BAFFR-CHO

Materiales/métodos:

5

En resumen, las células informantes de luciferasa nFkB BAFFR CHO humanas se recolectan, se lavan, se cuentan y se resuspenden en una concentración de 1.6×10^6 células por ml en un medio de ensayo (AM) de penicilina/estreptomicina al 1 % (v/v) en X-VIVO15, un medio libre de suero definido químicamente (Lonza). El 60mer de BAFF humano recombinante (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) se preparó en una concentración única (4.2 pM) en AM y se preincubaron con AM solo o con titulaciones seriales del compuesto de prueba durante 30 minutos a 37 °C, CO₂ al 5 % en una incubadora humidificada. Luego de la preincubación de BAFF + compuesto de prueba, se agregaron 50 ul de la o las mezclas a 50 ul de las células y la placa de prueba se incubó adicionalmente a 37 °C (como se describe) durante 24 horas. Las muestras de control recibieron AM (controles sin estimulación) o un 60mer de BAFF humano recombinante diluido en AM (controles con estimulación). Luego de 24 horas de incubación, la suspensión celular se trató

10

15

20

con el reactivo STEADY-Glo 100 ul (Promega), siguiendo las instrucciones del fabricante, y se sometió a ensayo para la expresión de luciferasa. Las unidades de luminiscencia relativas (RLU) se graficaron contra la concentración nanomolar Log10 del compuesto de prueba, donde los valores IC_{50} e IC_{90} se calcularon mediante el uso de un modelo logístico parámetro 4, soportado por el complemento Xlfit de Excel (ID Business Solutions Limited). Los valores de IC_{50} e IC_{90} del compuesto de prueba se calcularon como se describen anteriormente y Geomeans se calcularon a través de múltiples experimentos y se muestran en la Tabla 8.

Resultados:

Los compuestos de prueba inhibieron, de forma dependiente de la dosis, la activación de NFkB inducida por el 60mer de BAFF humano en células informantes de luciferasa BAFFR-CHO. Los resultados ilustrados en la Tabla 8 indican que los valores de la media geométrica IC_{50} e IC_{90} para los compuestos de prueba A, B, C, D, O, P, Q y R fueron más potentes que los tres antagonistas de BAFF de control.

Tabla 8: Valores de la media geométrica IC_{50} e IC_{90} para la inhibición del 60mer de BAFF humano en células informantes

BAFFR-CHO

ID del Compuesto	IC ₅₀ (pM)	IC ₉₀ (pM)
Compuesto A	6	19
Compuesto B	6	17
Compuesto C	6	14
Compuesto D	4	12
Compuesto F	1300	7388
Compuesto O	5	6
Compuesto P	2	9
Compuesto Q	5	13
Compuesto R	5	16
Compuesto X	1555	6839
Anticuerpo de control 1 (BAFF (1))	24075	180053
Antagonista de proteína de fusión de control 2 (BAFF (2))	43	107
Anticuerpo de control 3 (BAFF (3))	15	38

Ejemplo 7: Neutralización de la activación de NFκB inducida por BAFF unido a la membrana en células informantes de

Materiales/métodos:

Las células CHO-K1 que expresan BAFF humano se contaron y resuspendieron a una concentración de 2×10^6 células por ml en medio de crecimiento estándar. Para detener la escisión del BAFF unido a la membrana, las células se trataron con paraformaldehído al 0.125 % (Electron Microscopy) y se incubaron a temperatura ambiente durante una hora. Las células BAFF CHO-K1 humanas fijas se lavaron y resuspendieron luego a 2×10^6 células por ml en medio de crecimiento estándar y se incubaron durante la noche a 37°C , CO_2 al 5 %. Las células BAFF CHO-K1 humanas fijas se recolectaron y resuspendieron luego a una concentración 3.2×10^6 células por ml en X-VIVO15, un medio de ensayo libres de suero definido químicamente (Lonza) (AM) que contienen penicilina/estreptomicina al 1 % (v/v).

Las células informantes de luciferasa nFkB BAFFR CHO humanas se recolectan, se lavan, y se resuspenden en una concentración de 1.6×10^6 células por ml en un medio de ensayo. Las células BAFF CHO-K1 humanas fijas preparadas a 3.2×10^6 células por ml en AM y preincubadas con titulaciones seriales de los compuestos de prueba durante 30 minutos se agregaron luego a 50 μl de células informantes de luciferasa NFkB BAFFER CHO

humanas e incubadas adicionalmente a 37 °C durante 24 horas. Las células informantes de control recibieron AM solo (controles sin estimulación) o las células BAFF CHO-K1 humanas fijas se diluyeron en AM (controles con estimulación). Luego de 24 horas de incubación, las muestras se trataron con el reactivo STEADY-Glo 100 ul (Promega), y se sometió a ensayo para determinar la expresión de luciferasa. Las unidades de luminiscencia relativas (RLU) se graficaron contra la concentración nanomolar Log_{10} del compuesto de prueba, donde los valores IC_{50} e IC_{90} se calcularon mediante el uso de un modelo logístico de 4 parámetros, soportado por el complemento Xlfit de Excel (ID Business Solutions Limited). Los valores de IC_{50} e IC_{90} de los compuestos de prueba se calcularon como se describen anteriormente y Geomeans se calcularon a través de múltiples experimentos y se muestran en la Tabla 9.

Resultados

Los compuestos de prueba inhibieron, de forma dependiente de la dosis, la activación de NFkB inducida por BAFF humano unido a las membranas en células informantes de luciferasa BAFFR-CHO. Los resultados ilustrados en la Tabla 9 indican que los valores IC_{50} e IC_{90} para los compuestos de prueba fueron más potentes que los tres antagonistas de BAFF de control.

Tabla 9: Valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para la inhibición de mbBAFF en células informantes BAFFR-CHO

ID del Compuesto	IC ₅₀ (pM)	IC ₉₀ (pM)
Compuesto A	118	1015
Compuesto B	125	1139
Compuesto D	104	938
Anticuerpo de control 1 (BAFF (1))	553	10116
Antagonista de proteína de fusión de control 2 (BAFF (2))	581	3678
Anticuerpo de control 3 (BAFF (3))	250	2916

Ejemplo 8: Inhibición de la actividad de IL-23 humana en
 5 linfocitos B de linfoblastos (células DB) con células
informantes de luciferasa de STAT3

Materiales/métodos:

10 Los linfocitos B de linfoblastos (células DB; n.º de catálogo

de ATCC CRL-2289) se transdujeron de forma estable con un STAT-3 lentiviral/gen informante de luciferasa (Qiagen). Las células transducidas se mantuvieron bajo selección mediante el uso de puromicina (Life Technologies). El medio de cultivo completo fue medio RPMI-1640 (Life Technologies) complementado con FBS al 10 % (Hyclone) y puromicina 2 µg/mL (Life Technologies). El medio de ensayo fue un medio RPMI-1640 (Life Technologies) complementado con FBS al 10 % (Hyclone).

Las células DB-STAT3 modificadas se cultivaron a 20 000 células/pocillo en una placa blanca de 96 pocillos de fondo plano a 80 µL/pocillo en un medio de ensayo. Los compuestos de prueba (10x) se prepararon en placas de 96 pocillos de fondo redondo de polipropileno en un medio de ensayo y se diluyeron de forma acorde para crear intervalos de dosis de 1 µg/mL a 10 pg/mL. 10 µL de moléculas de prueba o medio de ensayo diluido (para pocillos de control) se agregaron a cada pocillo en tres veces. 10 µL of 10x de IL-23 humana (a una concentración final de 75 ng/mL por placa) se agregaron a cada pocillo. Alternativamente, se agregaron 10 µL de medio a los pocillos de control. La dosis de IL-23 seleccionada para el uso en el ensayo representa la dosis estimulante EC₆₀ de IL-23 humana para células DB modificadas como se determina en los estudios anteriores. Se incubaron las placas durante la noche a 37 °C

en CO₂ al 5 %. El reactivo de ensayo de luciferasa ONE-Glo™ (Promega) se preparó y se agregaron 100 µL a cada pocillo y se mezclaron. La luminiscencia se midió en un lector de placas Envision y luego se graficó (eje y) contra la concentración del anticuerpo (eje x). Los valores IC₅₀ de los compuestos se determinaron mediante la aplicación de los datos a una función dosis-respuesta sigmoide de 4 parámetros mediante el uso del software GraphPad Prism 6. Los valores IC₉₀ se determinaron mediante el cálculo de los datos con Find ECanything con el software GraphPad Prism 6. Las medias geométricas se calcularon a través de los múltiples experimentos y se muestran en la Tabla 10.

Resultados

Los resultados mostraron que los compuestos evaluados fueron capaces de inhibir la actividad de IL-23 humana en células DB con informantes de luciferasa de STAT3.

Tabla 10. Valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para la inhibición de la IL-23 humana en linfocitos B de linfoblastos.

ID del Compuesto	IC ₅₀ (pM)	IC ₉₀ (pM)
------------------	--------------------------	--------------------------

Compuesto A	145	1229
Compuesto B	161	1101
Compuesto C	189	2330
Compuesto D	128	3087
Anticuerpo de control 4 (IL-23a (1))	79	634

Ejemplo 9: Inhibición de la actividad de IL-23 humana y de cynomolgus en esplenocitos de ratón

5 *Materiales y métodos*

Se aislaron células mononucleares de bazos de ratón (hembra C57BL/6 de menos de 13 semanas de edad; JAX, Jackson Laboratories), se lavaron, se contaron y se resuspendieron a 10 4×10^6 células/ml en un medio de linfocitos T estándar (TCM). Se agregaron cien microlitros de la suspensión de mIL-2/esplenocitos a placas de microtitulación de 96 pocillos. Se diluyó la IL-23 humana recombinante (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) o IL-23 de cynomolgus recombinante 15 (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) en TCM y se preincubó durante 2 horas a 37 °C con TCM solo o con titulaciones de muestras de prueba. Después de la preincubación de la muestra de prueba + IL-23, se agregaron 100 μ l de la o

las mezclas a las células y se incubaron las placas de prueba a 37 °C con aire humedecido con CO₂ al 5 % durante 48 h. Las muestras de control recibieron TCM (controles sin estimulación) o IL-23 recombinante diluida en TCM (controles con estimulación). Después de la incubación, se determinaron los niveles de IL-17 a partir del sobrenadante mediante el uso de un inmunoensayo de IL-17 de ratón Quantikine® de acuerdo con las instrucciones del fabricante (R&D Systems). Se determinaron los valores pg/ml de mIL-17 interpolada para cada muestra y se convirtieron en porcentaje de control (POC). El POC se graficó en función de la concentración de la muestra de prueba y se calcularon los valores de IC₉₀ mediante el uso de un modelo de logística de 4 parámetros habilitado por el complemento XLfit de Excel (software Activity Base, ID Business Solutions, Ltd.). Se analizaron los compuestos de prueba con respecto a IC₅₀ e IC₉₀ tal como se describió anteriormente, y se calcularon las medias geométricas a través de múltiples experimentos para cada compuesto de prueba y se muestran en la Tabla 11.

20 *Resultados*

Los resultados muestran que los compuestos evaluados fueron capaces de inhibir la liberación de IL-17 en esplenocitos de ratón inducida con IL23 de cynomolgus y humana.

Tabla 11: Valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para inhibir la IL-23 humana y de cynomolgus en esplenocitos de ratón

ID del Compuesto	IL23 humana		IL23 de cyno	
	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀
	(pM)	(pM)	(pM)	(pM)
Compuesto A	146	1647	155	1309
Compuesto B	202	1360	200	1480
Compuesto C	133	761	110	880
Compuesto D	105	1700	97	1554
Anticuerpo de control 4 (IL-23A (1))	84	366	64	331

Ejemplo 10. Farmacocinética de los compuestos en monos
cynomolgus

Materiales y métodos:

Se llevaron a cabo estudios de PK de dosis intravenosa (IV) única para los Compuestos de prueba A, B, C y D en monos cynomolgus macho (n = 2 por molécula). Las dosis se administraron como una inyección de bolo IV lenta de 1 mg/kg. Se recolectaron muestras de sangre entera antes de la dosis y 0.25, 2 y 6 h luego de la dosis en el día de la dosificación y

1, 2, 3, 4, 7, 10, 14, 21 y 28 días luego de la dosis. Las concentraciones en suero de moléculas dosificadas se midieron mediante un ensayo de unión al ligando basado en MSD.

5 Se prepararon muestras de la curva estándar de calibración y control de calidad (QC) en suero agrupado de monos cynomolgus al 100 %. Cada curva estándar consistió en siete puntos distintos a cero que comenzaron en 512 ng/mL y luego se diluyeron en serie tres veces. También se incluyó una muestra
10 vacía (matriz sin analito). Se prepararon cinco muestras de QC en intervalos bajo, medio y alto que comenzaron en 256 ng/ml, luego se diluyeron en serie cuatro veces hasta 8 ng/mL, luego se utilizó una dilución de 2 veces para preparar el QC más bajo a 4 ng/mL. Las muestras de curva estándar y QC se incluyeron
15 en duplicado durante cada ejecución analítica. Se definieron los límites de cuantificación inferior y superior como los puntos de QC más bajo y más alto capaces de tener concentraciones reproducibles retrocalculadas que no exceden el 30 por ciento (%) de las concentraciones nominales. El
20 criterio de aceptación para los puntos de la curva estándar fue de 30 por ciento (%) de las concentraciones nominales.

Para medir la concentración de fármaco activo en muestras de suero, se preparó una mezcla maestra, que combina la detección

de BAFF humano recombinante biotinilado 0.5 µg/mL e IgG antihumana de cabra sulfoetiquetada 0.5 µg/mL en el amortiguador de unión (BSA al 5 % en 1x PBS con Tween 20 al 0.05 %). La mezcla maestra se agregó a una placa sin unión y
5 que bloquea de luz de 96 pocillos a 50 µL por pocillo. Se agregaron veinticinco µL de estándares y QC (solución madre diluida 1:20 en amortiguador de unión) por pocillo en duplicado a la placa sin unión que contiene la mezcla maestra. Las muestras de suero desconocidas se diluyeron 1:20 en el
10 amortiguador de unión y 1:400 en el amortiguador de unión que contiene suero al 5 %. Veinticinco µL de muestras diluidas se agregaron por pocillo a placas sin unión que contienen la mezcla maestra. Las placas sin unión se incubaron a temperatura ambiente en un agitador de placas (500 rpm, 1.5 h). En paralelo,
15 se bloqueó una placa de oro de estreptavidina mediante el uso de amortiguado de bloqueo 150 µL (BSA al 5 % con 1X PBS con Tween 20 al 0.05 %) y se incubó a temperatura ambiente en un agitador de placas (500 rpm, 1.5 h). Luego de la incubación, las placas de MDS se lavaron tres veces con 300 µL por pocillo
20 de amortiguador de lavado (Tween 20 al 0.05 % en 1XPBS). Cincuenta µL de la muestra de las placas sin unión se agregaron a las placas de MDS y se incubaron a temperatura ambiente (1.5 h, 600 rpm). Luego de la incubación, las placas se lavaron tres veces con amortiguador de lavado y se agregaron 150 µL de 2x

amortiguador T de lectura a cada pocillo y se llevó a cabo la lectura inmediatamente en un MSD Sector Imager 2400. Las curvas estándar se ajustaron a una ecuación logística de cuatro parámetros mediante el uso del software MSD Sector Imager. Los parámetros farmacocinéticos se calcularon mediante el uso del análisis no compartimental en Phoenix WinNonlin 6.3 (Certara, MD, EUA).

Resultados:

10

La concentración en suero media (SD) con respecto a los perfiles temporales para los compuestos de prueba se ilustran en la Figura 2. Los parámetros farmacocinéticos promedio (SD) para los compuestos de prueba se resumen en la Tabla 12. Las muestras de suero que muestran una disminución abrupta en la concentración de fármaco en el tiempo, que se confirmó que fueron positivas para el anticuerpo antifármaco se excluyeron de los cálculos de parámetros farmacocinéticos.

20 Tabla 12: Los parámetros farmacocinéticos medios (SD) de los compuestos de prueba en monos cynomolgus machos luego de una dosis intravenosa única de 1 mg/kg.

ID del Compuesto	AUC _{0-última}	AUC _{0-inf}	CL	Vss	T $\frac{1}{2}$

	($\mu\text{g} \cdot \text{d}/\text{mL}$)	($\mu\text{g} \cdot \text{d}/\text{mL}$)	($\text{mL}/\text{día}/\text{kg}$)	(mL/kg)	(días)
Compuesto A	52.5 (6.6)	54.2 (7.1)	18.6 (2.4)	61.6 (4.3)	3.1 (0.3)
Compuesto B	102.7 (1.8)	127.0 (3.6)	7.9 (0.2)	64.4 (6.6)	6.2 (0.7)
Compuesto C	26.6 (1.4)	27.0 (1.3)	37.1 (1.8)	66.9 (13.2)	2.3 (0.4)
Compuesto D	33.8 (1.3)	34.5 (1.8)	29.0 (1.5)	55.7 (5.5)	2.8 (0.8)

Ejemplo 11. Predicción de la PK en humanos y la dosis en humanos de un compuesto de ejemplo

5 Se utilizó un ajuste de Dedrick elemental para ajustar las concentraciones de suero de mono medias del Compuesto B a la humana, mediante un exponente alométrico de 1.0 para el volumen de distribución y 0.85 para depuración. El perfil de concentración-tiempo de suero i.v. humano predicho se ajustó a

10 un modelo de dos compartimentos lineales. El perfil de concentración-tiempo de suero s.c. humano se predijo mediante la combinación de parámetros a partir del modelo i.v. de dos compartimentos con la velocidad de absorción s.c. media y biodisponibilidad observada para los mAb terapéuticos

15 comercializados. Se predice que la depuración y semivida

terminal es de 0.34 L/d y 9.9 d en humanos saludables, respectivamente. El perfil de concentración-tiempo de suero humano previsto del Compuesto B, luego de una dosis s.c. de 100 mg administrada una vez cada dos semanas se muestra en la

5 Figura 3

La dosis eficaz humana prevista es 1 mg/kg administrada s.c. una vez cada dos semanas. Este régimen de dosis se prevé para mantener una $C_{min} \geq 30$ nM (6 $\mu\text{g/mL}$) con una administración s.c.

10 bisemanal o menos frecuente. La dosis eficaz prevista puede basarse en las respuestas a la concentración-biomarcador Pd observadas para belimumab (Benlysta®), tabalumab y blisibimod en pacientes con SLE y RA. En estos estudios, la inhibición máxima de biomarcadores asociados con BAFF se relaciona con

15 una C_{min} en estado estable de 30-40 nM. La concentración necesaria para neutralizar IL23 es mucho más baja que la necesaria para neutralizar BAFF y, por lo tanto, no tiene un impacto en la C_{min} necesaria general para el antagonista dual.

20 Ejemplo 12. Purificación de compuestos

Métodos:

Los compuestos se purificaron mediante el uso de Mab Select

SuRe como una etapa de purificación por afinidad.

La elución se llevó a cabo mediante el uso de un amortiguador de acetato de sodio, pH 3.5. A continuación de la purificación con Mab Select SuRe, la muestra se neutralizó y se aplicó a una resina Poros 50 HS y se eluyó mediante el uso de un gradiente de cloruro de sodio en un amortiguador de citrato de sodio. El pico de monómero se eluye a 20 mM de NaCitrato y NaCl 120 mM pH 6.0. A continuación de la cromatografía de intercambio de iones, la muestra fue constantemente monómero >95 %.

Se utilizó un experimento de velocidad de sedimentación (SV) mediante ultracentrifugación analítica (AUC) para proporcionar información sobre la pureza de la muestra y los estados de agregación. Las muestras fueron centrifugadas en XL-I óptima (Beckman Coulter, Fullerton, CA) a 20 °C mediante un rotor de cuatro orificios An60Ti con una ejecución a 40 000 rpm. El proceso de sedimentación se monitoreó mediante absorbancia ultravioleta a 280 nm, mediante el uso del amortiguador de dilución correspondiente como amortiguador de referencia. La variación en la distribución de concentración en la célula de la ultracentrífuga con el transcurso del tiempo se recolectó mediante el uso del software operativo de XL-I y se analizó

mediante el uso de un modelo de distribución continua $c(S)$ en el software SEDFIT (versión 14.1) para proporcionar el coeficiente de distribución de sedimentación. Se calculó el porcentaje de monómero en función del área de pico integrada.

5

Resultados:

Los resultados de la purificación de los compuestos se muestran en la tabla 13. Los datos muestran que los compuestos tienen una pureza y homogeneidad altas que indican una estabilidad

10 satisfactoria.

Tabla 13

Nombre del parámetro	Compuestos A, B, C, D
Porcentaje de monómero (velocidad de sedimentación)	monómero al 99 % agregado al 1 %

15 Ejemplo 13: Perfil de espectrometría de masas de los compuestos

Métodos:

Muestra natural

20

Este procedimiento proporcionó la masa intacta del compuesto o

la proteína. Se inyectaron 0.15 ul de la muestra a una columna Agilent Poroshell 300SB-C3, 5 um, (30x1.0mm). La temperatura de la columna fue de 80 °C y la velocidad de flujo fue de 150 ul/min. El compuesto o la proteína se eluyó de la columna con un gradiente de B al 10 % a los 0 minutos a B al 85 % a los 6 minutos. La fase móvil A fue de agua/acetonitrilo/ácido fórmico/acetato de amonio (99/1/0.1/2 mM) y la fase móvil B fue de n-propanol/acetonitrilo/agua/ácido fórmico (70/20/10/0.1). El efluente se dirigió hacia un espectrómetro de masas Agilent 6224 TOF, que se escaneó de la masa 600 a la masa 3200. Los datos sin procesar se deconvolucionaron con el programa MassHunter.

Muestra reducida

15

Este procedimiento proporcionó la masa de la proteína o la cadena ligera y la masa de la cadena pesada. 5ul de la muestra se agregaron a 5uL de una mezcla 20:1 de Guanadina 8 M HCL:TCEP y se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. 0.15ul de esta muestra se inyectó como anteriormente con las siguientes diferencias: el compuesto o la proteína se eluyó de la columna con un gradiente de B al 5 % a los 0 minutos a B al 85 % a los 6 minutos, la temperatura de la columna fue 60 °C y el intervalo de masa fue de 600-2000.

Muestra desglicosilada

Este procedimiento proporcionó la masa desglicosilada de la proteína o de la cadena ligera y de la cadena pesada. 7.5ul de la muestra se agregaron a 3.2 uL de una mezcla 20:1 de bicarbonato de amonio:PNGasa F 400 mM y se incubaron durante 3 horas a 37 °C. Luego, 10 ul de la mezcla 20:1 de Guanadina HCL:TCEP 8 mM se agregaron a la muestra y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente. Esta mezcla se inyectó tal como se describió anteriormente para la mezcla reducida.

Mapeo de péptido mediante espectrometría de masas

Se diluyeron muestras en un amortiguador de desnaturalización que consiste en GdHCl 6M, Tris-HCL 250 mM pH 7.5 y DTT 10 mM y luego se incubaron a 37 °C durante 30 minutos. Las muestras se alquilaron luego con yodoacetamida y se incubaron en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 minutos. Las mezclas de reacción se purificaron y el amortiguador se intercambió a Tris-HCL 100mM pH 7.5 mediante el uso de cartuchos Sephadex G-25 Superfine. Las muestras se digirieron luego con tripsina durante una incubación de 4 horas a 37 °C. Las mezclas de reacción digeridas se inactivaron posteriormente mediante la adición de TFA.

La digestión triptica obtenida se inyectó en una columna de fase inversa Phenomenex Jupiter C18 mediante el automuestreador de un Dionex Ultimate 3000 HPLC. Se utilizó un sistema de solvente de gradiente que consiste en solvente A: ácido fórmico al 0.1 %/agua al 99 %/acetonitrilo al 1 % y el solvente B: ácido fórmico al 0.1 %/agua al 5 %/acetonitrilo al 95 %. El porcentaje de solvente B se aumentó desde 0 % a 38 % durante 140 minutos. Se llevó a cabo la separación cromatográfica a temperatura ambiente a una velocidad de flujo de 100 µl/min. El almacenamiento de la muestra en el automuestreador fue a 4 °C. Luego de la separación cromatográfica la muestra ingresó a un espectrómetro de masas Thermo Scientific Orbitrap Fusion operado en un modo de ionización de electroaspersión positiva. El método empleado incluyó los tipos de activación de CID mediante el uso de una resolución de 30 000, una señal mínima de 10 000, un ancho de aislamiento de 1.0 y una energía de colisión normalizada de 35.0 V. El nivel de RF del lente S se estableció a 20 %. El tipo de recolección de datos es un perfil para el escaneo MS total y centroide para los datos CID MS/MS. Los datos se recolectan en un intervalo de masa de 250-2000 Da a una velocidad de adquisición de 1 espectro/segundo.

Los datos de fragmentación LC-MS y LC-MS/MS sin procesar recolectados de la digestión enzimática se analizaron mediante

el uso de Proteome Discover 1.4 (Thermo Scientific) contra la secuencia dada. Los péptidos identificados que contienen un consenso de N-X-S/T (X no es P) se analizaron luego mediante extracción manual de EIC para los péptidos glicosilados. Las intensidades de MS de los péptidos glicosilados a través de EIC se utilizaron para estimar sus porcentajes de la abundancia total de glicoformas.

Resultados:

10

Los resultados se muestran en la Tabla 14. Los datos indican que se han expresado y recuperado la estructura y la secuencia de aminoácidos prevista sin heterogeneidad inesperada. El patrón de glicosilación es típico de un anticuerpo convencional expresado en células CHO y no muestra ninguna estructura atípica.

15

Tabla 14:

Parámetro	Compuesto B
Espectrometría de masas: Perfil de peso molecular intacto	Secuencia intacta/coincidente

Espectrometría de masas: Perfil de glicosilación	Similar a IgG expresada en CHO
--	--------------------------------

Ejemplo 14: El contenido de monómeros en una concentración alta

El fin de la descripción de este proceso es evaluar las propiedades inherentes del compuesto B mediante la evaluación de la agregación con un aumento de concentración. Se utiliza un amortiguador estándar de NaCitrato 20 mM, NaCl 120 mM pH 6 sin evaluación de formulación para entender la propensión de moléculas al agregado.

Métodos:

El compuesto B se concentró gradualmente hasta una concentración lo más alta posible sin precipitación observada mediante el uso de un filtro de centrifugación Amicon Ultra con un peso molecular reducido de 50 000 Dalton (Millipore, Billerica). Las soluciones de proteína concentradas se sometieron luego a un análisis sec analítico para proporcionar información sobre los estados de pureza y agregación de la muestra. La cromatografía se llevó a cabo mediante el uso de HPLC Agilent Serie 1200. El sistema de ejecutó a 1.0ml/min

durante 23 minutos. ~30ug de material se inyectaron en una columna Tosoh Biosciences TSKgel G3000SWXL (5um 250a 7.8x30 cm) y los resultados se leyeron a 280 nm. Se utilizó el amortiguador de migración fosfato sódico 50 mM, L-arginina 0.2 M pH 6.8.

Resultados:

El resumen de datos SEC analítico para el compuesto B durante el proceso de concentración se enumera en la Tabla 15 y la Figura 4 Se presentan los datos que muestran agregación y pureza de muestra a concentraciones en aumento lo que demuestra que el compuesto B no tiene una propensión a agregarse con un aumento de concentración.

15

Tabla 15. Resumen de datos SEC analítico para el compuesto B durante el proceso de concentración

Concentración del compuesto B (mg/ml)	Datos SEC analítico
10	monómero al 99.6 %, agregado al 0.4 %
20	monómero al 99.5%, agregado al 0.5%
40	monómero al 99.6 %,

	agregado al 0.4 %
75	monómero al 99.5%, agregado al 0.5%
100	monómero al 99.5%, agregado al 0.5%
121	monómero al 99.5%, agregado al 0.5%

M = monómero, A = agregado

Ejemplo 15: Valencia de los compuestos

5 Métodos:

Se utilizó electroforesis analítica confinada a la membrana para medir la valencia de compuestos que fueron dializados previamente en un amortiguador de acetato 10 mM, KCl 50 mM pH 10 5.0 durante la noche. En la configuración experimental, se cargaron 20 μ L de muestra a 1 mg/mL en una cubeta de cuarzo de 2x2x4 mm³ cuyos dos extremos fueron sellados mediante 10 membranas de grado celulosa regenerada semipermeable MWCO. Estas membranas atrapan las macromoléculas mientras permiten 15 que pasen el agua y los componentes de solvente. Se aplicó luego una corriente eléctrica de 1 mA a través de la cubeta, lo que estableció un campo eléctrico a lo largo de su longitud

en el que la macromolécula cargada se mueve en el campo eléctrico con un flujo continuo de amortiguador fresco. Se detectó el límite de concentración móvil en tiempo real mediante el uso de una matriz de fotodiodos lineal (LPDA) que
5 proporciona lecturas de intensidad espaciadas a lo largo de la cubeta. La velocidad del límite de concentración se utilizó para calcular la movilidad electroforética y posteriormente la valencia eficaz. Se utilizó posteriormente información adicional tal como el radio de Stokes (obtenido a partir de la
10 velocidad de sedimentación ejecutada en el AUC), radio de contracción (0.122 nm para el ión de cloruro), conductancia de amortiguador (6.35 mS) y resistencia iónica (0.05 M) para revelar la valencia subyacente de la macromolécula.

15 *Resultados:*

Los datos de la valencia (ver Tabla 16) indican una estabilidad coloidal de los compuestos en solución, es decir, la interacción neta de la proteína y la proteína en solución. Los
20 compuestos con una valencia mayor que 15 tienen una interacción repulsiva neta fuerte y un potencial alto para formularse a una concentración alta.

Tabla 16. Datos de valencia para los compuestos

ID del Compuesto	Valencia a pH 5.0
Compuesto A	24.4 ± 0.2
Compuesto B	21.5 ± 0.3
Compuesto D	21.8 ± 0.2

Ejemplo 16: Estabilidad en sangre entera de los compuestos.

Métodos

5

Se desarrolló un ensayo de interferencia en sangre entera en un octeto RED96 para detectar los efectos de la unión no específica o la unión fuera de la objetivo para los compuestos en presencia de la sangre entera (WB). Se incubaron las

10 soluciones de los compuestos en sangre entera y amortiguador de ejecución cinético 1x (1xkb) a una temperatura de 37 °C durante 48 horas. Se llevaron a cabo mediciones cinéticas para las muestras de compuestos incubadas con un octeto RED96 equipado con puntas de un biosensor de estreptavidina (SA)

15 (ForteBio, Menlo Park, CA) a 27 °C. Se indicó la relación de las señales de velocidad de asociación/de unión en amortiguador y sangre entera. Se consideró que una relación < 2 no muestra interferencia.

20 *Resultados*

Los resultados se muestran en la Tabla 17. No se observó una interferencia en sangre entera para los compuestos de prueba.

Tabla 17. Resultados de unión en sangre entera para los compuestos

Parámetros	Relación de señales de unión en WB/amortiguador cinético con respecto a BAFF hu	Relación de señales de unión en WB/amortiguador cinético con respecto a IL23 hu
Compuesto A	1.2	1.1
Compuesto B	1.2	1.5
Compuesto C	1.1	1.3
Compuesto D	1.3	1.7
Compuesto E	1.0	1.1
Compuesto F	1.0	1.2

Ejemplo 17: Predicción de inmunogenicidad in silico

Métodos

10

Se predijo la inmunogenicidad de terapéuticos de proteína in silico mediante el uso de una herramienta informática, EpiMatrix, que fue desarrollada por EpiVax, Inc. (Providence, RI).

EpiMatrix incorpora la predicción del epítipo que asiste a T, así como el T-epítipo, de los cuales el primero provoca una respuesta inmunitaria mientras que el último es inhibidor. En resumen, la secuencia de proteína se analizó, en primer lugar, en marcos de péptidos de 9 mer superpuestos que se había probado que eran el núcleo de la unión de HLA clase II. Se evaluó el potencial de unión de los péptidos de 9 mer con respecto a cada uno de los ocho alelos de HLA clase II comunes en función de los datos experimentales o la predicción informática. Se genera una clasificación para reflejar el potencial de unión del péptido de 9 mer con respecto a cada alelo de HLA y se lleva a cabo la normalización para hacer posible la comparación de cualquiera de 9 mer a través de múltiples alelos de HLA y permitir la predicción de inmunogenicidad a escala global. Al final, el programa genera una "clasificación de inmunogenicidad" general, clasificación tReg Adjusted Epx, la probabilidad de que los compuestos provoquen una respuesta inmunitaria in vivo.

20 *Resultados*

Los resultados se muestran en la Tabla 18. Los registros de inmunogenicidad general para los compuestos de prueba son bajos y se predice que estos compuestos posiblemente no producirán

una respuesta inmunitaria fuerte in vivo.

Tabla 18 Puntajes EpiVax

Parámetro	EpiVax (Cadena 1, Cadena 2)
Compuesto A	-46.13, -28.39
Compuesto B	-45.77, -28.39
Compuesto C	-41.40, -28.42
Compuesto D	-41.01, -28.42
Compuesto E	-39.81, -41.43
Compuesto F	-42.15, -36.94
Compuesto G	-43.75, -29.30
Compuesto H	-35.19, -43.44
Compuesto I	-43.38, -29.30
Compuesto J	-34.78, -43.44
Compuesto K	-43.75, -33.61
Compuesto L	-37.80, -43.44
Compuesto M	-43.38, -33.61
Compuesto N	-37.40, -43.44
Compuesto O	-34.66, -39.56
Compuesto P	-34.24, -39.56
Compuesto Q	-34.64, -47.37
Compuesto R	-34.22, -47.37
Compuesto S	-40.96, -40.09
Compuesto T	-43.91, -40.09

	204
Compuesto U	-41.31, -44.98
Compuesto V	-42.53, -36.94
Compuesto W	-38.33, -44.98
Compuesto X	-39.42, -41.43

Ejemplo 18: Inhibición de BAFF humano en el ensayo de proliferación de linfocitos B humanos primarios

5 *Materiales y métodos*

Las muestras de sangre saludable normales (n = 3 donantes) utilizados en este estudio se adquieren de Biological Specialty Corporation, Philadelphia, PA. El medio de cultivo completo fue IMDM (Life Technologies) complementado con FBS al 10 % (Life Technologies) más Pen/Strep (Life Technologies). El amortiguador de aislamiento de linfocitos B consiste en Mg^{++} and Ca^{++} estéril libre de DPBS (Life Technologies) más FBS al 2 % más EDTA 2 mM (Life Technologies).

15

Aislamiento de linfocitos B humanos de sangre entera humana saludable

Se transfirieron cuatrocientos mL de sangre entera heparinizada a una botella de poliestireno estéril de 1000 mL y se agregó un volumen igual de DPBS. Treinta y cinco 35 mL de sangre

20

diluida con PBS se colocó en la parte superior de un gradiente Ficoll-Paque™ Plus (GE Healthcare) 15 mL cargado previamente en un tubo de fondo redondo de poliestireno 50 mL. Los tubos se centrifugaron a 2000 rpm a temperatura ambiente durante 20 minutos sin parar. Luego, dos tercios del sobrenadante superior se aspiró y la capa gris media que contiene células mononucleares de sangre periférica (PBMC) se transfirieron a un tubo cónico de 50 mL. Se agregó DPBS (libre de Ca⁺⁺ y Mg⁺⁺) + FBS al 2 % FBS, hasta un volumen de 50 mL. Los tubos se centrifugaron a 1200 rpm durante 10 minutos. El sedimento celular resultante se resuspendió con DPBS (libre de Ca⁺⁺ and Mg⁺⁺) + FBS al 2 % (amortiguador de lavado) y la etapa de centrifugado (1200 rpm durante 10 minutos) se repitió. El sedimento celular se resuspendió nuevamente en amortiguador de lavado hasta 50 mL. La viabilidad celular y concentración celular se midió en este punto.

El tubo se centrifugó a 1200 rpm durante 10 minutos y el sobrenadante se descartó. El sedimento celular se resuspendió con un medio de cultivo completo y la concentración celular se ajustó a 5×10^6 células/mL. Las células suspendidas se colocaron en un matraz de cultivo de tejidos de 75 cm² en una incubadora de CO₂ al 5 % (al 37 °C) durante la noche. Los linfocitos B se aislaron luego mediante el uso del kit de

linfocitos T humanos Dynabeads® Untouched™ (Life Technologies) siguiendo el protocolo del fabricante. La concentración celular se ajustó para ser adecuada para el procedimiento corriente abajo luego de la medición de la concentración y viabilidad celular.

Evaluación de proliferación de linfocitos B mediante el uso de un ensayo de incorporación de ^3H -timidina

Los linfocitos B se cultivan en una placa de fondo redondo de 96 pocillos de cultivo de tejido Falcon (1×10^5 células/100 μL de medio de cultivo por pocillo). Luego, los artículos de prueba se prepararon a concentraciones seriales 4x que varían de 0.028 a 20 nM y estímulos de linfocitos B (anticuerpos anti-IgM y BAFF humano) en concentraciones 4x (8 $\mu\text{g/mL}$ y 20 ng/mL, respectivamente) con un medio de cultivo completo. Se agregaron 50 μL de artículos de prueba prediluidos a los pocillos respectivos (0.007 a 5 nM, concentración final). Luego, se agregaron 50 μL de IgM antihumana de cabra prediluido (2 $\mu\text{g/mL}$, concentración final) y hBAFF (5 ng/mL o 98 pM, concentración final) a los pocillos correspondientes (ver Figura 6). Se cultivaron linfocitos B en una incubadora humidificada con CO_2 al 5 % a 37 °C durante 72 horas. Dieciocho horas antes del extremo de la incubadora, se agregaron 20 μL de 1 μCi de ^3H -

timidina (Pelkin Elmer) a cada pocillo. Se utilizó un recolector de células para transferir ADN con ^3H -timidina incorporada/pocillo a una placa de filtro de vidrio de microfibra, donde se agregaron 30 μL de un potenciador de centelleo a los pocillos luego de secar al aire la placa durante al menos 4 horas. El valor de los conteos por minuto (cpm) de cada pocillo se midió mediante el uso de un MicroBeta Topcount y se graficó el valor cpm (eje y) contra la concentración de los artículos de prueba (eje x).

Análisis estadísticos:

Se determinaron IC_{50} e IC_{90} mediante el ajuste de los datos a una curva a una función de dosis-respuesta sigmoide de 4 parámetros mediante el uso del software GraphPad Prism 6. Las medias geométricas se calcularon a través de tres experimentos y se muestran en la Tabla 19.

Resultados

Los resultados mostraron que el Compuesto B parece ser aproximadamente 2 veces más potentes en comparación con un anticuerpo de control 3 cuando se comparan los valores IC_{50} e IC_{90} .

Tabla 19. Valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para la inhibición del BAFF humano en un ensayo de proliferación de linfocitos B humanos

ID del Compuesto	IC ₅₀ (pM)	IC ₉₀ (pM)
Compuesto B	33.7	160.2
Anticuerpo de control 3 (BAFF (3))	87.3	370.8

5 Ejemplo 19. Inhibición de la cantidad de linfocitos B B220+
inducida por la sobreexpresión de BAFF humano en ratones
B10.RIII

Materiales y métodos

10

En resumen, en el día 1, se dividieron aleatoriamente ratones hembra B10.RIII (de 6-8 semanas, Jackson Laboratory) en 10 grupos, 10 animales/grupo y se les proporcionó una inyección intraperitoneal de 100 µl de amortiguador de citrato (NaCitrato
 15 20 mM, NaCl 115 mM, pH 6.0) o compuestos de prueba a una dosis molar equivalente de 1.3, 0.4 y 0.13 mg/kg con respecto a 1, 3 y 0.1 mg/kg, respectivamente. Los ratones no tratados previamente constituyeron el control adicional. Inmediatamente

después del tratamiento en el día 1, se les administró a los ratones una dosis de 3 mg única (1.5 mg/mL) de ADN de minicírculos de BAFF humano (System Biosciences) mediante inyección hidrodinámica contra un grupo de control de vector vacío (EV). El tratamiento intraperitoneal con amortiguador de citrato o compuestos de prueba se repitió cada 72 horas en los días 3, 6, 9 y 12.

En el día 14, los ratones se anestesiaron mediante el uso de isoflurano (Butler Schein) y se sacrificaron mediante descolocación cervical. Los bazo se retiraron y se analizó una suspensión celular mediante citometría de flujo para linfocitos B B220+. Se determinaron las cantidades promedio para cada grupo de tratamiento y se comparó la importancia con el control calculado mediante el uso de ANOVA unidireccional mediante la prueba de comparación múltiple de Dunnett. Los resultados se muestran en la Figura 5.

Resultados

20

Los resultados muestran que el tratamiento durante 14 días con el Compuesto B fue capaz de inhibir significativamente la expansión de linfocitos B B220+ inducida por el ADN de minicírculos de BAFF humano

Ejemplo 20. Inhibición de la liberación de IL17A e IL22 de
ratón inducida por IL23 humana en ratones C57/BL6

Materiales y métodos

5

En resumen, se dividieron aleatoriamente ratones hembra C57BL/6 (de 7-10 semanas, Charles River) en 8 grupos, 8 animales/grupo y se les proporcionó una inyección intraperitoneal de 100 µl de cada amortiguador de citrato (NaCitrato 20 mM, NaCl 115 mM, pH 6.0) o compuestos de prueba a una dosis molar equivalente de 1.3, 0.4 y 0.13 mg/kg con respecto a 1, 3 y 0.1 mg/kg, respectivamente.

Una hora después de que los ratones con dosificación del compuesto de prueba se anestesiaran mediante isoflurano (Butler Schain) y se les proporcionara una inyección intradérmica de 20µl de BSA al 0.1 % (Sigma) control o 15 µg/ml (0.3 µg) de rhIL23 (generada en el laboratorio) diluida en solución salina (Invitrogen) en ambas orejas. Los estímulos intradérmicos se repitieron diariamente durante 2 días consecutivos. Veinticuatro horas después del segundo estímulo, los ratones fueron sacrificados mediante dislocación cervical y se extirparon las orejas. El tejido de las orejas se homogeneizó en 1 ml de amortiguador de homogeneización (HBSS (Gibco);

Triton X-100 al 0.4 % (Sigma); 1X inhibidor de la proteasa SigmaFast (Sigma)) mediante el uso de un homogeneizador Fast-Prep 24 de MP Biomedicals. Las muestras homogeneizadas se centrifugaron a 4C durante 10 min y se recolectó el sobrenadante. Los sobrenadantes se sometió a ensayo para determinar la presencia de IL17A e IL22 de ratón, mediante el uso de inmunoensayos Quantikine® de IL-17 de ratón e IL-22 de ratón de acuerdo con las instrucciones del fabricante (R&D Systems). Se determinaron los valores en pg/ml de la citocina interpolada para cada muestra. Se determinaron los niveles de pg/ml promedio para cada grupo de tratamiento y se comparó la importancia con el control calculado mediante el uso de ANOVA unidireccional mediante la prueba de comparación múltiple de Dunnett.

15

Resultados

Los resultados en la Figura 6 muestran que el tratamiento con una dosis intraperitoneal única del Compuesto B fue capaz de inhibir significativamente la liberación de IL17 e IL22 de ratón en la piel inducida con dos inyecciones intradérmicas consecutivas diarias de IL23 humana recombinante.

20

SECUENCIAS

SEQ ID NO	Secuencia
1	QVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFNNNAINWVRQAPGQGLEWMG GIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASMELSSLRSED TAVYYCAR SRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSS
2	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPV LVIYG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVL
3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIG YIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAI PDRSGYAWFIYWGGTTLVTVSS
4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIK
5	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPV LVIYG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGTTLVTVSSLGGGSGAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK

	SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
6	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFNNN AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSED TAVYYCARSRDLLFP HHALSPWGRGTMVTVSSLGGGSGR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNFPYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
7	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFNNN AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSED TAVYYCARSRDLLFP HHALSPWGRGTMVTVSSLGGGSGA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
8	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPV LVIYG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSLGGGSGRTV

	AAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
9	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPV LVIYG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSGGCGGGEVA ACEKEVA ALEKEVA ALEKEVA ALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG
10	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRV SCKASGGTFNNN AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSED TAVYYCARSRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSSGGCGGGK VAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
11	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRV SCKASGGTFNNN AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSED TAVYYCARSRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSSGGCGGGE VAACEKEVA ALEKEVA ALEKEVA ALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAG

	GPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
12	SSELTDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYIG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LVT VSSGGCGGGKVA ACCEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
13	SSELTDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYIG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LVT VSSLGGGSGAST KGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVSMHEALHNHYTQKSLSLSLG
14	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCASGGTFNNN

	AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSED TAVYYCARSRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSSLGGGSGR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
15	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCASGGTFNNN AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSED TAVYYCARSRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSSLGGGSGA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE SKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
16	SSELTDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYICSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGGLTVTVSSLGGGSGRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
17	SSELTDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYG

	KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLTVTVSSGGCGGGEVA ACEKEVA ALEKEVA ALEKEVA ALEKESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL FPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSLG
18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCASGGTFNNN AINWVRQAPGQGLEWMGGII PMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSED TAVYYCARSRDLLLPFPHALSPWGRGTMVTVSSGGCGGGK VAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
19	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCASGGTFNNN AINWVRQAPGQGLEWMGGII PMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSED TAVYYCARSRDLLLPFPHALSPWGRGTMVTVSSGGCGGGE VAACEKEVA ALEKEVA ALEKEVA ALEKESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSV FLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHY

	TQKSLSLSLG
20	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQGLTVTVSSGGCGGGKVA ACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
21	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCASGAFDYWGQGT TTVTVSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVFPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
22	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISLQPEDFVYYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQGLTVTVSSLGGGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKSTYSLSSLTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF

	NRGEC
23	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDТАVYYCASGAFDYWGQGTTVTVSSGGCGGGEVAACEKEVA ALEKEVAALEKEVAALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG
24	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISLQPEDFVTTYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDТАVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTЛTVTVSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
25	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDТАVYYCASGAFDYWGQGTTVTVSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW

	YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
26	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVITYYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKY NENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LTVTVSSLGSGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
27	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCASGAFDYWGQGTTVTVSSGGCGGGEVAACEKEVA ALEKEVA ALEKEVA ALEKESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGL G
28	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVITYYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDQ

	TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LVT VSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
29	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGT TDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCASGAFDYWGQGT TVTVSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
30	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQDIGNRLN WYQQKPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFV TYYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LVT VSSLGGGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
31	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAPDHIFSIH

	WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCASGAFDYWGQGT TTVTVSSGGCGGGEVAACEKEVA ALEKEVA ALEKEVA ALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG
32	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLN WYQQKPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKY NENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LVTVSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
33	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCASGAFDYWGQGT TTVTVSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

34	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGNRLNWKQKPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTTYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSLGSGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
35	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTDDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCASGAFDYWGQGTITVTVSSGGCGGGEVAACEKEVA ALEKEVAALEKEVAALEKESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSL G
36	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGNRLNWKQKPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTTYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
37	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQKPGKVPKLLIY

	WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQRPQGQLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSTVTVSSLGGGSGAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
38	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFADYYCLQYRSYPRTF GGGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTTLTVTVSSLGGGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
39	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQRPQGQLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSTVTVSSGGCGGGEV AACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH

	NHYTQKSLSLSPG
40	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFADYYCLQYRSYPRTF GGGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLLTVVSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
41	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIIHWVRQRPQGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSTVTVSSSLGGGSGAS TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG
42	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFADYYCLQYRSYPRTF GGGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLLTVVSSSLGGGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
43	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIIHWVRQRPQGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYM

	ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSGGCGGGEV AACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEKESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVF LFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLG
44	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYCLQYRSYPRTF GGGKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGT LVT VSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
45	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFRSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFFAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLEFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
46	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY

	SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYRSYPRTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLLTVVSSLGSGSRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
47	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSTVTVSSGGCGGGEV AACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
48	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYRSYPRTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLLTVVSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
49	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF

	GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESRVMTMRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSTVTVSSSLGGGSGAS TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSLG
50	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQYRSYPRTF GQGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGT LVT VSSSLGGGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
51	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESRVMTMRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSTVTVSSGGCGGGEV AACEKEVA ALEKEVA ALEKEVA ALEKESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVF LFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA

	KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLG
52	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYRSYPRTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTTLTVSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
53	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTTLTVSSSLGGGSGASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
54	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGT TDYNEKFKGKVTITV DKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCASGAFDYWGQGT TTVTVSSSLGGGSGRTVAAPSVFI

	FPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
55	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTTYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGQGLTVTVSSLGGGSGASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG
56	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGT TDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCASGAFDYWGQGT TTVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
57	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGNRLNWIYQQKPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTTYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGQGLTVTVSSLGGGSGASTK

	GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
58	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSII WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCASGAFDYWGQGTITVTVSSLGSGSGRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLNIFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
59	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLNWIYQQKPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVITYYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSLGSGSGASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

60	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTDDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCASGAFDYWGQGTTVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC
61	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFADYYCLQYRSYPRTF GGGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTLVTVSSLGGGSGASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
62	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQRPQGQLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSTVTVSSLGGGSGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK

	SFNRGEC
63	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFADYYCLQYRSYPRTF GGGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGGLTVTVSSLGGGSGASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQRPQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
65	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQYRSYPRTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGGLTVTVSSLGGGSGASTK

	GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
66	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESRVMTMTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSTVTVSSLGGGSGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
67	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQYRSYPRTF GQGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSLGGGSGASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ

	EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
68	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
69	GGGSGGGG
70	LGGGSG
71	FNRGEC
72	VEPKSC
73	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
74	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK

	SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
75	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
76	EPKSCDKTHTCPPCP
77	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
78	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
79	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

80	MDDSTEREQSRLTSCCLKREEMKLKECVSILPRKESPSVRSSKDGLLA ATLLLALLSCCLTVVSFYQVAALQGDLASLRAELQGHHAEKLPAGAGAP KAGLEEAPAVTAGLKIFEPPAPGEGNSSQNSRNKRAVQGPEETVTQDCL QLIADSETPTIQKGSYTFVPWLLSFKRGSAL EEKENKILVKETGYFFIY GQVLYTDKTYAMGHLIQRKKVHVFGDELSLVTLFRCIQNMPETLPNNSC YSAGIAKLEEGDELQLAIPRENAQISLDGDVTFFGALKLL
81	MLGSRAVMLLLLLPWTAQGRAVPGGSSPAWTQCQQLSQKLCTLAWSAHP LVGHMDLREEGDEETTNDVPHIQCGDGDQPGLRDNSQFCLQRIHQGLI FYEKLLGSDIFTGEPSELLPDSPVGQLHASLLGLSQLLQPEGHHWETQQI PSLSPSQPWQRLLLRFKILRSLQAFVAVAAARVFAHGAATLSP
82	GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK
83	GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
84	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMG EIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAS GAFDYWGQGTTTVTVSS
85	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTTYCLQYASSPFTF GQGTKLEIK
86	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMG EIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAS GAFDYWGQGTTTVTVSS
87	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGNRLNWKQKPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTTYCLQYASSPFTF GQGTKLEIK
88	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSTFTFIHWVRQRPQGQGLEWIG RIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCAR

	GEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSS
89	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYCLQYRSYPRTF GGGTKLEIK
90	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQAPGQGLEWIG RIDPNSGATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAR GEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSS
91	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYRSYPRTF GQGTKLEIK
92	GGTFNNNAIN
93	GIIPMFGTAKYSQNFQG
94	SRDLLLFPHHALSP
95	QGDSLRSYYAS
96	GKNNRPS
97	SSRDSSGNHWV
98	GYTFTDQTIH
99	YIYPRDDSPKYNENFKG
100	PDRSGYAWFIY
101	KASRDVAIAVA
102	WASTRHT
103	HQYSSYPFT
104	DHIFSIHWMQ
105	EIFPGSGTTDYNEKFKG
106	GAFDY
107	RASQDIGNRLS

108	ATSSLDS
109	LQYASSPFT
110	DHIFSIHWMQ
111	EIFPGSGTTDYNEKFKG
112	GAFDY
113	RASQDIGNRLN
114	ATSSLDS
115	GYSFSTFFIH
116	RIDPNSGATKYNEKFES
117	GEDLLIRTDALDY
118	KASQNAGIDVA
119	SKSNRYT
120	LQYRSYPRT
121	GYSFSTFFIH
122	GRIDPNSGATKYNEKFES
123	GEDLLIRTDALDY
124	KASQNAGIDVA
125	SKSNRYT
126	LQYRSYPRT
127	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
128	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV

	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
129	LEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
130	LEPKSSDKTHTCPPCP
131	GCKWDLLIKQWVCDPLGSGSATGGSGSTASSGSGSATHMLPGCKWDLLI KQWVCDPLGGGGGVDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
132	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIG EINHSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARG YYDILTGYYYYFDYWGQGTLVTVSS
133	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIY DASNRATGIPARFSGSGSGTDSTLTISILEPEDFAVYYCQQRSNWPRTF GQGTKVEIK
134	ESKYGPPCPPCP
135	GGCGGG
136	LGGCGGGS

Todas las características descritas en la presente memoria descriptiva pueden combinarse en cualquier combinación. Cada
5 característica descrita en la presente memoria descriptiva puede remplazarse con una característica alternativa que cumpla el mismo fin o un fin equivalente o similar. Por lo tanto, a menos que se indique expresamente lo contrario, cada característica descrita es únicamente un ejemplo de una serie
10 genérica de características equivalentes o similares.

A partir de la descripción anterior, un experto en la técnica puede determinar fácilmente las características esenciales de la presente descripción y, sin apartarse del espíritu y alcance
15 de esta, puede realizar diversos cambios y modificaciones en la descripción para adaptarla a diversos usos y condiciones. Por lo tanto, otras modalidades también se encuentran dentro de las reivindicaciones.

La descripción se refiere a compuestos específicos para IL23A
y BAFF, composiciones que comprenden los compuestos y métodos
5 de uso de estos. También se describen ácidos nucleicos, células
y métodos de producción relacionados con los compuestos y las
composiciones.

P-14823

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Expediente No. **NC2018/0001264**

Solicitud de patente a nombre de **BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH y MACROGENICS INC.**

Yo, CAROLINA DAZA MONTALVO identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en la Carrera 11 No. 86-53, obrando como apoderada de las sociedades BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH y MACROGENICS INC., domiciliadas en Alemania y Estados Unidos de América, respectivamente, solicitantes de la patente de la referencia, en respuesta al oficio No. **4889** notificado electrónicamente el 19 de junio de 2019, relacionado con los requerimientos de fondo de la solicitud, atentamente me permito presentar la siguiente información:

1. Modificación al Título de la Solicitud

El examinador ha indicado que los “usos” no son patentables y por tanto el título debe ser modificado. En respuesta a ello, siguiendo la sugerencia del examinador, se informa que el título se ha modificado para recitar “*COMPUESTO QUE SE DIRIGE A IL-23A Y AL FACTOR DE ACTIVACIÓN DE LINFOCITOS B (BAFF)*”.

2. Modificación a las Reivindicaciones

Con fundamento en la facultad que confiere el artículo 34 de la Decisión 486 al solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, presento junto con este memorial nuevo capítulo reivindicatorio, el cual consta de treinta y una (31) reivindicaciones y reemplaza completamente el presentado anteriormente. Específicamente, se realizaron las siguientes modificaciones:

- 2.1** No se incluyen las antiguas reivindicaciones 2, 5, 6, 14 y 16. Las características técnicas divulgadas en las antiguas reivindicaciones 2, 5 y 6 se incluyeron en la antigua reivindicación 1. Asimismo, las características técnicas descritas en la antigua reivindicación 14 se incluyeron en la antigua reivindicación 13.
- 2.2** Se modificó la antigua reivindicación 1 con el propósito de eliminar los ítems (i) a (v) que recitaban las secuencias de aminoácidos de VL1, VH1, VL2 y VH2. Adicionalmente, tal como se indicó previamente, se incorporaron en dicha reivindicación las características técnicas divulgadas en las antiguas reivindicaciones 2, 5 y 6.
- 2.3** Se modificó la antigua reivindicación 13 a fin de eliminar los ítems (i) a (xii) y (xvii) a (xx) que recitaban las secuencias de aminoácidos del primer y segundo polipéptido. Además, tal como se indicó anteriormente, se incorporaron en dicha reivindicación las características técnicas divulgadas en la antigua reivindicación 14.
- 2.4** Se modificó la antigua reivindicación 17 con el fin de eliminar los ítems (i) a (v) que recitaban las secuencias de aminoácidos de VL1, VH1, VL2 y VH2.
- 2.5** Se modificó la antigua reivindicación 22 con el propósito de eliminar los ítems (i) a (v) y (x) a (xii) que recitaban las secuencias de aminoácidos de los primeros y segundos polipéptidos. Adicionalmente, se incluyó el nuevo ítem (ii) que divulga, *"cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o"*.
- 2.6** Se reemplazó el término *"célula hospedera"* por *"célula recombinante"*.
- 2.7** Se modificó el preámbulo de la antigua reivindicación 33 con el fin de recitar *"un método in vitro para producir un polipéptido..."*. Además, se definieron claramente las etapas del método reclamado.
- 2.8** Las reivindicaciones y sus dependencias han sido reenumeradas, en vista de la modificación mencionada.

En cuanto a estas modificaciones, me permito decir que las mismas no amplían de ninguna manera la materia objeto de la presente solicitud y se realizaron con el ánimo

de superar las objeciones de claridad y unidad de invención planteadas por el examinador en su concepto técnico.

3. Pago de tasas

En relación con el número de reivindicaciones, atentamente nos permitimos decir que no se adjunta tasa por concepto de reivindicaciones adicionales, toda vez que el nuevo capítulo reivindicatorio tiene un menor número de reivindicaciones que el anteriormente presentado, y en esencia es el mismo objeto, pero definido con mayor claridad.

4. Claridad y concisión de las reivindicaciones

Los solicitantes manifiestan que mediante la presentación del nuevo capítulo reivindicatorio quedan subsanadas la totalidad de las objeciones, de modo tal que las nuevas reivindicaciones proporcionan claridad y concisión a la invención descrita, siguiendo las recomendaciones realizadas por el examinador en su concepto técnico. En cuanto a las diferentes objeciones formuladas, se desea manifestar lo siguiente:

- 4.1** El examinador ha objetado la caracterización de la invención, indicando que *"la reivindicación 1, no es clara, tampoco concisa porque no presentan todas las características técnicas estructurales y funcionales del compuesto"*. En dicho respecto, los solicitantes manifiestan su completo desacuerdo y expresan que, la presente solicitud divulga claramente las secuencias completas de cada una de las regiones variables que constituyen el primer y segundo polipéptidos, las cuales están presentes en los compuestos de anticuerpos biespecíficos de la invención, cuyas secuencias permiten que los polipéptidos biespecíficos sujetos se unan específicamente a BAFF e IL-23A y, por lo tanto, inhiben las actividades de estos polipéptidos de citosinas. Además, la solicitud proporciona las secuencias para péptidos enlazadores ejemplares y regiones constantes. Basado al menos en lo anterior, una persona experta comprendería fácilmente las características estructurales esenciales y las características funcionales de los polipéptidos de los anticuerpos según la invención. De esta manera, respetuosamente se solicita que la objeción realizada sea retirada.
- 4.2** El examinador ha sugerido reemplazar el término *"célula hospedera"* por *"línea celular"*. Ante dicha sugerencia, los solicitantes manifiestan su desacuerdo e indican que, el término *"línea celular"* no es una sustitución correcta ya que una célula que contiene un ácido nucleico que codifica un polipéptido de anticuerpo

biespecífico de acuerdo con la invención, no es necesariamente una línea celular. Con base en esto, el término "*célula hospedera*" se reemplazó por "*célula recombinante*". Una persona experta entendería bien que la célula recitada es recombinante con base en la presencia de un ácido nucleico sintético que codifica los polipéptidos de los anticuerpos biespecíficos en cuestión. Por lo tanto, respetuosamente se solicita que la objeción realizada sea retirada.

4.3 De acuerdo con la objeción realizada por el examinador a la antigua reivindicación 33, dicha reivindicación se modificó con el fin de reclamar "*Un método in vitro para producir un polipéptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 que comprende obtener una célula recombinante de acuerdo con la reivindicación 27, cultivar dicha célula recombinante bajo condiciones que permitan la expresión de dicho ácido nucleico en dicha célula recombinante y aislar dicho polipéptido*". Por lo tanto, la objeción ya no es aplicable.

4.4 Su Despacho ha indicado que, "*la reivindicación 35 carece de sustento en el capítulo descriptivo*". En respuesta a ello, los solicitantes expresan su completo desacuerdo y manifiestan que, dicha reivindicación (ahora la reivindicación 30) establece que la célula huésped (ahora "*célula recombinante*") que contiene un ácido nucleico que codifica un polipéptido de anticuerpo biespecífico según la invención puede seleccionarse "*de una célula bacteriana, de levadura, de mamífero y de insecto*".

La solicitud PCT en cuestión revela claramente en las Páginas 49-53 que los polipéptidos de anticuerpos biespecíficos en cuestión pueden expresarse en diferentes células huésped, incluyendo todo lo anterior. Si bien los solicitantes reconocen que la expresión de los polipéptidos biespecíficos en cuestión sólo se reduce realmente a la práctica en células de mamífero; la expresión de anticuerpos en células bacterianas, de levadura y de insectos estaba bien establecida a partir de la fecha de la invención. En consecuencia, según la materia divulgada y la información en el dominio público, una persona experta se colocaría claramente en posesión del género recitado de posibles células huésped. Por lo tanto, respetuosamente se solicita que la objeción realizada sea retirada.

4.5 Además, los solicitantes desean manifestar que, particularmente con base en las modificaciones realizadas, todas las reivindicaciones ahora requieren un anticuerpo biespecífico que comprende primer y segundo polipéptidos en los que:

el VL1 restante (contenido en el primer polipéptido) comprende la SEQ ID NO: 4;

el VH1 (contenido en el segundo polipéptido) comprende la SEQ ID NO: 3;

el VL2 restante (contenido en el primer polipéptido) comprende la SEQ ID NO: 91; y

el VH2 restante (contenido en el primer polipéptido) comprende la SEQ ID NO: 90;

y, además, en donde:

dicho primer polipéptido comprende además un primer enlazador peptídico entre dicho VL1 y dicho VH2 y dicho segundo polipéptido comprende además un segundo enlazador peptídico entre dicho VL2 y dicho VH1, dicho segundo polipéptido comprende además un dominio de región constante de cadena ligera (CL), donde dicha CL y dicha CH1 se asocian entre sí mediante un enlace disulfuro para formar un dominio CL, y dicho primer polipéptido comprende además un tercer enlazador peptídico entre dicho VH2 y dicha CH1 y dicho segundo polipéptido comprende además un cuarto enlazador peptídico entre dicho VH1 y dicha CL.

Lo anterior es claro con base en las modificaciones realizadas a las nuevas reivindicaciones 1, 12 (anteriormente 17), 22 (anteriormente 27) y la cancelación de la antigua reivindicación 16. Por ejemplo, la nueva reivindicación 1 requiere que el anticuerpo biespecífico comprenda las secuencias de polipéptidos variables antes mencionadas. Se observa además que estos polipéptidos variables están comprendidos en 4 compuestos de anticuerpos biespecíficos que se identifican en la solicitud PCT en cuestión como Compuesto A, Compuesto B, Compuesto AG y Compuesto AH (véase la Tabla 2 en la Página 40). Además, la nueva reivindicación 1 requiere además el enlazador y las limitaciones de región constante mencionadas en las antiguas reivindicaciones 2, 5 y 6, que con base en esto no son incluidas en el nuevo capítulo reivindicatorio.

- 4.6** Además, teniendo en cuenta los anticuerpos biespecíficos divulgados en la antigua reivindicación 13 (nueva reivindicación 10), los solicitantes señalan que cada uno de estos anticuerpos comprende los polipéptidos variables específicos en los primeros y segundos polipéptidos de los anticuerpos biespecíficos requeridos por la nueva reivindicación 1. Estas especies corresponden,

respectivamente, a los compuestos de anticuerpos biespecíficos identificados en esta solicitud como Compuesto A, AG, B y AH.

En consecuencia, nos permitimos indicar que el presente capítulo reivindicatorio, que incluye treinta y una (31) reivindicaciones, se ajusta a las disposiciones del artículo 30 de la Decisión 486/00.

5. Modificación a la Descripción

De acuerdo con la observación realizada por el examinador, se presenta un nuevo capítulo descriptivo en el cual se han incluido de manera completa y organizadas las tablas 2 a 8, 10, 12 y 17 a 19, las cuales no se visualizaban de manera correcta.

6. Unidad de Invención

Su Despacho ha indicado que la solicitud no cumple con el requisito de unidad de invención porque se refiere a 19 grupos inventivos. En dicho respecto, tal como se indicó previamente, el nuevo capítulo reivindicatorio ha sido modificado de manera que las nuevas reivindicaciones requieren lo siguiente:

un anticuerpo biespecífico que comprende primer y segundo polipéptidos en los que:

- el VL1 restante (contenido en el primer polipéptido) comprende la SEQ ID NO: 4;
- el VH1 (contenido en el segundo polipéptido) comprende la SEQ ID NO: 3;
- el VL2 restante (contenido en el primer polipéptido) comprende la SEQ ID NO: 91; y
- el VH2 restante (contenido en el primer polipéptido) comprende la SEQ ID NO: 90;

y, además, en donde:

dicho primer polipéptido comprende además un primer enlazador peptídico entre dicho VL1 y dicho VH2 y dicho segundo polipéptido comprende además un segundo enlazador peptídico entre dicho VL2 y dicho VH1, dicho segundo polipéptido comprende además un dominio de región constante de cadena ligera (CL), donde dicha CL y dicha CH1 se asocian entre sí mediante un enlace disulfuro para formar un dominio CL, y dicho primer polipéptido comprende además un tercer enlazador peptídico entre dicho VH2 y dicha CH1 y dicho segundo

polipéptido comprende además un cuarto enlazador peptídico entre dicho VH1 y dicha CL.

Los solicitantes respetuosamente afirman que las reivindicaciones modificadas definen una invención unitaria como el género de polipéptidos de anticuerpos biespecíficos que poseen las características estructurales mencionadas anteriormente, por lo que razonablemente se espera que posean propiedades funcionales análogas, por ejemplo, su afinidad con sus objetivos respectivos IL-23A y BAFF, así como su respectiva capacidad para antagonizar los efectos de IL-23A y BAFF *in vitro* e *in vivo*. Esto se esperaría razonablemente al menos porque comprenden los mismos polipéptidos pesados y ligeros variables en la misma orientación y unidos por enlaces peptídicos como se menciona en la reivindicación 1.

Además, los solicitantes afirman que la solicitud PCT proporciona evidencia convincente de que el género reivindicado de anticuerpos biespecíficos exhibe propiedades de unión y funcionales comparables, más particularmente su capacidad para bloquear potentemente las actividades biológicas asociadas a BAFF e IL-23A. Sin aceptar los méritos de la objeción a la unidad de invención, las reivindicaciones se han limitado a compuestos biespecíficos que contienen las secuencias variables específicas correspondientes a los compuestos A y B (así como a los compuestos AG y AH). Con respecto a esto, como se discute en detalle más adelante, la presente solicitud al menos en los ejemplos de trabajo y las Figuras a las que se hace referencia, proporciona evidencia extensa que demuestra que los compuestos que tienen estas estructuras poseen ventajas técnicas compartidas.

La presente solicitud establece que los compuestos biespecíficos que contienen los polipéptidos variables mencionados se unen tanto a BAFF como a IL-23 con alta afinidad, es decir, comparables a los anticuerpos parentales de los que se derivaron y además muestra que estos compuestos bloquean o neutralizan potentemente actividades que son provocadas por estas dos citosinas. Particularmente, la presente solicitud proporciona evidencia en una serie de ensayos diferentes que corroboran que los compuestos biespecíficos que contienen las secuencias variables citadas, además comprendidas en la orientación mencionada, neutralizan IL-23A de manera comparable para controlar los anticuerpos anti-IL-23A y las proteínas de fusión que contienen los mismos polipéptidos variables y además, demuestra que dichos polipéptidos biespecíficos neutralizan o bloquean los efectos de BAFF más potentemente que los anticuerpos de control o las proteínas de fusión que contienen los mismos polipéptidos variables. Estos resultados son bastante notables porque los anticuerpos biespecíficos

a menudo no se unen al objetivo de manera comparable a los anticuerpos parentales que contienen los mismos polipéptidos variables y, por lo tanto, a menudo no poseen la misma capacidad de funcionar como compuestos antagonistas efectivos. Por el contrario, se ha demostrado que los compuestos que poseen las características estructurales requeridas por la nueva reivindicación 1, presentan una alta afinidad de unión a ambos objetivos y bloquean efectivamente las actividades de ambas citosinas objetivo.

Las propiedades beneficiosas de los compuestos biespecíficos que poseen las características estructurales requeridas por la nueva reivindicación 1 pueden apreciarse claramente a partir de los ejemplos de trabajo y las Figuras a las que se hace referencia en ellos. Particularmente, el Ejemplo 2 muestra que los Compuestos A y B poseen una estabilidad térmica comparable en un rango de temperaturas (véase la Tabla 3) y, por lo tanto, poseen una larga vida útil. Esto es beneficioso ya que los anticuerpos biespecíficos, debido a su formato no nativo, a menudo no son tan estables al almacenamiento como los anticuerpos convencionales.

El ejemplo 3 contiene datos de unión por afinidad que además muestran que los Compuestos A y B se unen tanto a IL-23A como a BAFF con alta afinidad, es decir, los valores de KD tanto para el antígeno humano como para el antígeno cynomolgus son inferiores a 15 pM (Ver Tabla 4). Nuevamente, esto es altamente beneficioso ya que los anticuerpos biespecíficos a menudo se unen a un objetivo con una afinidad apreciablemente menor que el otro objetivo. Por el contrario, los Compuestos A y B se unen a ambos objetivos de manera comparable y con alta afinidad.

El ejemplo 4 demuestra en un ensayo de antagonista BAFF reconocido en la técnica, es decir, un ensayo que detecta la inhibición dependiente de la dosis de activación de NFkB inducida por un trímero de BAFF de cynomolgus y humano en células informantes de BAFFR-CHO, que los compuestos A y B neutralizan potentemente la actividad BAFF en comparación con los antagonistas de control, es decir, anticuerpos anti-BAFF convencionales o proteínas de fusión. Esto se demuestra por los valores de IC50 apreciablemente más bajos en este ensayo en comparación con los antagonistas de BAFF de control (Ver Tablas 5 y 6).

El ejemplo 5 demuestra además en otro ensayo de antagonista BAFF reconocido en la técnica, es decir, un ensayo que detecta la inhibición dependiente de la dosis de activación de NFkB inducida por un trímero de BAFF de cynomolgus y humano en células informantes de luciferasa TACI-CHO, que los compuestos A y B neutralizan de manera

comparable y potente la actividad BAFF en comparación con los antagonistas de control, es decir, anticuerpos anti-BAFF convencionales o proteínas de fusión. Esto se demuestra por los valores de IC50 apreciablemente más bajos de los compuestos de la invención en este ensayo en comparación con los antagonistas de BAFF de control (Ver tabla 7).

El ejemplo 6 demuestra además en otro ensayo de antagonista de BAFF que detecta la inhibición dependiente de la dosis de la activación de NFκB inducida por un 60mer de BAFF en células informantes de luciferasa BAFFR-CHO, que los Compuestos A y B neutralizan potentemente la actividad de BAFF en comparación con los antagonistas de control, es decir, anticuerpos anti-BAFF convencionales o proteínas de fusión. Esto se demuestra por los valores de IC50 apreciablemente más bajos de estos compuestos en este ensayo en comparación con los antagonistas de BAFF de control (Ver tabla 8).

El ejemplo 7 demuestra además en otro ensayo de antagonista de BAFF que detecta la neutralización dependiente de la dosis de la activación de NFκB inducida por BAFF unido a la membrana en células informantes de luciferasa BAFFR-CHO, que los compuestos A y B neutralizan de manera comparable y más potente la actividad de BAFF en comparación con los antagonistas de control, es decir, anticuerpos anti-BAFF convencionales o proteínas de fusión. Esto se demuestra nuevamente por los valores de IC50 apreciablemente más bajos de los compuestos de la invención en este ensayo en comparación con los antagonistas de BAFF de control (Ver tabla 9).

El ejemplo 18 demuestra además en otro ensayo de antagonista de BAFF (ensayo de proliferación de células B humanas que detecta la inhibición de la proliferación de células B, en la que dicha inhibición está mediada por la neutralización o inhibición de BAFF humano), que el Compuesto B posee una actividad antagonista 2 veces mejor en este ensayo que el antagonista del anticuerpo de BAFF de control (Ver Tabla 19).

El ejemplo 19 demuestra además en un ensayo de antagonista BAFF *in vivo* que probó el efecto del mismo compuesto biespecífico, es decir, el Compuesto B; en donde este compuesto antagonista inhibió potentemente BAFF durante una duración prolongada (es decir, la inhibición se mantuvo después de 14 días de tratamiento). Este ejemplo muestra particularmente que los números de células B B220+ se reducen 14 días después de que se produjo la sobreexpresión humana BAFF en ratones B10.RIII usando ADN de minicírculos de BAFF humano (Ver resultados en la Figura 5).

Por lo tanto, los solicitantes respetuosamente manifiestan, basado al menos en lo anterior, que la presente solicitud proporciona evidencia sustancial que demuestra que

los compuestos biespecíficos que poseen las características estructurales requeridas por la nueva reivindicación 1, inhiben de manera potente y comparable la actividad BAFF, de hecho mejor en comparación con los compuestos antagonistas de control.

Los ejemplos 8 y 9 demuestran adicionalmente en ensayos aceptados mediante los cuales se detecta la inhibición de IL-23A por los supuestos antagonistas de IL-23A, que los Compuestos A y B inhiben potente y comparablemente IL-23 en células DB con un indicador de luciferasa de STAT3 (ver Tabla 10) y, además, inhiben potentemente la liberación de IL-17 en esplenocitos de ratón inducida con IL23 de cynomolgus y humana (véase Tabla 11). Particularmente, los resultados muestran que los valores de IC50 detectados están dentro de aproximadamente 1,5-4 veces de los valores de IC50 del antagonista de anticuerpo de control IL-23.

Por lo tanto, los solicitantes respetuosamente manifiestan, basado al menos en lo anterior, que la presente solicitud proporciona evidencia sustancial que demuestra que los compuestos biespecíficos que poseen las características estructurales requeridas por la nueva reivindicación 1 inhiben potentemente la actividad de IL-23A, es decir, de manera comparable con los compuestos antagonistas de control.

Los ejemplos 10-17 demuestran además que los compuestos reivindicados poseen propiedades farmacocinéticas y otras propiedades deseables para anticuerpos terapéuticos, los cuales se administrarán repetidamente para el tratamiento de una afección autoinmune o inflamatoria crónica como en el presente documento.

El ejemplo 10 analiza los valores de PK de los Compuestos A y B cuando se administran por vía intravenosa a monos cynomolgus a diferentes dosis (ver Figura 2 y Tabla 12), que indican que los compuestos que tienen las características estructurales requeridas por la nueva reivindicación 1 y sus dependientes, deberían ser capaces de proveer una dosificación *in vivo* efectiva, por ejemplo, cuando se administra por vía intravenosa a humanos.

El ejemplo 11 proporciona dosis PK pronosticadas para el compuesto B que indican que un sujeto humano puede tratarse eficazmente con una dosis de 1 mg/kg de Compuesto B cada dos semanas. Con base en la estructura similar y las propiedades antagonistas del Compuesto A, se puede suponer razonablemente que otros compuestos de acuerdo con la reivindicación 1 y sus dependientes, poseerán perfiles de dosificación eficaces similares.

El ejemplo 12 muestra que los compuestos de anticuerpos biespecíficos como se reclaman pueden purificarse fácilmente hasta su homogeneidad y poseer una buena estabilidad, nuevamente propiedades deseables para anticuerpos terapéuticos que se administrarán repetidamente para el tratamiento de una afección autoinmune o inflamatoria crónica como en el presente documento (Ver Tabla 13).

El ejemplo 13 muestra que los compuestos de anticuerpos biespecíficos como se reclaman, incluidos los compuestos A y B, poseen un patrón de glicosilación típico de un anticuerpo convencional expresado en células CHO (véase Tabla 14); de nuevo, una característica deseable para anticuerpos terapéuticos que deben administrarse repetidamente para el tratamiento de una afección autoinmune o inflamatoria crónica como en el presente documento.

El ejemplo 14 muestra que un compuesto de anticuerpo biespecífico de acuerdo con la invención (Compuesto B), no tiene una propensión a agregarse incluso a altas concentraciones (véase Tabla 15), una vez más, una propiedad muy deseada para un compuesto de anticuerpo terapéutico que debe administrarse repetidamente para el tratamiento de una afección autoinmune o inflamatoria crónica como en el presente documento.

El ejemplo 15 muestra que los compuestos de anticuerpos biespecíficos probados que poseen las características estructurales requeridas por la nueva reivindicación 1, los Compuestos A y B poseen valores de valencia (véase Tabla 16), los cuales sugieren una buena estabilidad coloidal. Esto indicaría que los compuestos biespecíficos de la invención pueden formularse a niveles de alta concentración, otra propiedad deseada más para un compuesto de anticuerpo terapéutico que se administrará repetidamente para el tratamiento de una afección autoinmune o inflamatoria crónica como en el presente documento.

El ejemplo 16 muestra que los compuestos de anticuerpos biespecíficos probados de acuerdo con la reivindicación 1 (compuestos A y B) no están sujetos a interferencia de sangre entera (véase Tabla 17); todavía otra propiedad deseada para un compuesto de anticuerpo terapéutico que se administrará repetidamente para el tratamiento de una afección autoinmune o inflamatoria crónica como en el presente documento.

El ejemplo 17 proporciona predicciones de datos *in silico* que indican que los compuestos ejemplares que poseen las características estructurales requeridas por la nueva reivindicación 1, es decir, los Compuestos A y B no deberían ser propensos a la

inmunogenicidad; otra propiedad muy deseada para un compuesto de anticuerpo terapéutico que se administrará repetidamente para el tratamiento de una afección autoinmune o inflamatoria crónica como en el presente documento.

Por lo tanto, los solicitantes respetuosamente expresan, basado al menos en lo anterior, que la presente solicitud proporciona evidencia sustancial que demuestra que los compuestos biespecíficos que tienen las características estructurales establecidas en la nueva reivindicación 1 y sus dependientes, poseen propiedades farmacocinéticas superiores que deberían hacer que estos compuestos sean bien adecuados para su uso en tratamiento de afecciones crónicas, tales como afecciones inflamatorias crónicas o autoinmunes.

En resumen, los solicitantes afirman que esta solicitud, al menos en los Ejemplos 1-20 y las Figuras a las que se hace referencia en ellos, proporciona datos sustanciales que demuestran de manera convincente que el género de compuestos incluidos en la nueva reivindicación 1 y sus dependientes, posee propiedades ventajosas compartidas en comparación con los compuestos antagonistas de control. Como tal, se solicita respetuosamente que la objeción a la unidad de invención sea retirada.

No obstante lo anterior, los solicitantes se reservan el derecho de presentar solicitudes divisionales dirigidas a la materia que no ha sido incluida en esta oportunidad.

7. Novedad y Nivel Inventivo

De acuerdo con el oficio que se contesta, una vez consultadas las fuentes de información accedidas por la Oficina de Patentes, no se encontraron documentos que anticipen el objeto del grupo inventivo 1 identificado, tal y como se encuentra reivindicado.

En dicho respecto, por el mismo razonamiento expuesto en la respuesta a la objeción de unidad de invención, los solicitantes sostienen que esta solicitud, al menos en los Ejemplos 1-20 y las Figuras a las que se hace referencia en la misma, proporciona datos sustanciales que demuestran convincentemente que el género de compuestos reclamados en la reivindicación 1 y sus dependientes, posee propiedades ventajosas compartidas en comparación con los compuestos antagonistas de control. Como tal, se afirma que las reivindicaciones de la presente solicitud definen una invención que es novedosa e inventiva con respecto a la técnica anterior. De esta manera, la presente invención cumple las disposiciones de los artículos 16 y 18 de la Decisión 486/00.

Dado lo anterior, se solicita respetuosamente se continúe el trámite de la presente solicitud y se emita la concesión de la misma.

8. Conclusión

Con las modificaciones introducidas y los argumentos presentados puede concluirse que:

- i) La presente solicitud es clara, concisa y está debidamente soportada en la descripción, cumpliendo con los requerimientos del Artículo 30 de la Decisión 486; y
- ii) Las reivindicaciones actuales son patentables, cumpliendo así con los requerimientos de los Artículos 16 y 18 de la Decisión 486.

Habiendo atendido cabalmente las objeciones presentadas por ese despacho, atentamente solicitamos se conceda el privilegio de patente de invención a la solicitud en estudio o si el señor examinador considera que subsisten razones para objetar la presente invención, rogamos expedir otro examen de fondo con los debidos motivos y razones que sustenten su objeción con el fin de que nuestro mandante tenga la posibilidad de exponer sus argumentos con base en la interpretación de los artículos 45 de la Decisión 486 -el cual otorga la facultad al examinador para emitir los exámenes de fondo- y 42 del Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo que señala que: "*habiéndose dado oportunidad a los interesados para expresar sus opiniones, y con base en las pruebas e informes disponibles, se tomará la decisión, que será motivada. La decisión resolverá todas las peticiones que hayan sido oportunamente planteadas dentro de la actuación por el peticionario y por los terceros reconocidos*", (el subrayado es nuestro).

En consecuencia, solicitamos a ese Despacho pronunciarse en relación con todos los argumentos presentados en este memorial dando estricta aplicación al principio del debido proceso consagrado en el artículo 29 de la Constitución Nacional.

9. Anexos

- Nuevo capítulo descriptivo.
- Nuevo capítulo reivindicatorio conformado por treinta y una (31) reivindicaciones.

Señora Directora,



CAROLINA DAZA MONTALVO

C.C. 66.783.790 de Palmira Valle

TP-141563 CSJ

notificaciones@clarkemodet.com.co

COMPUESTO QUE SE DIRIGE A IL-23A Y AL FACTOR DE ACTIVACIÓN DE

LINFOCITOS B (BAFF)

SOLICITUD RELACIONADA

5

La presente solicitud reivindica el beneficio de la fecha de presentación según el párrafo 119 del título 35 del USC de las solicitudes provisionales estadounidenses número de serie 62/196,170, presentada el 23 de julio de 2015; n° de serie 10 62/201,067, presentada el 4 de agosto de 2015; y el n° de serie 62/355,302, presentada el 27 de junio, 2016, todas tituladas COMPOUND TARGETING IL-23A AND B-CELL ACTIVATING FACTOR (BAFF) AND USES THEREOF, contenidos de las cuales se incorporan mediante referencia a la presente en su totalidad.

15

ANTECEDENTES

La inflamación implica una respuesta inmunitaria innata y adaptable que es necesaria para combatir la infección. Sin embargo, cuando la inflamación se vuelve una enfermedad 20 autoinflamatoria o autoinmunitaria desenfrenada, puede desarrollarse una enfermedad neurodegenerativa e incluso

cáncer. Se conoce que las citosinas proinflamatorias tales como IL1, BAFF, TNF-alfa, IL6, IL12, IL17, IL18 e IL23 se ven implicadas en la inflamación y las vías específicas que activan células inmunitarias. Sin embargo, no está claro si o cómo la inhibición de una o más de estas citosinas podría tener como resultado el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias o autoinflamatorias.

La interleucina 23 (IL23) es una citosina heterodimérica que consiste en dos subunidades, p40 y p19. También se hace referencia a la subunidad p19 como IL-23A. Mientras que la subunidad p19 es única de IL23, la subunidad p40 se comparte con la citosina IL12. IL23 surge actualmente como un regulador clave de las células linfoides innatas (ILC, por sus siglas en inglés), Th17, $\gamma\delta$ T patogénicas que provocan la producción de IL17, IL22 y otras citosinas que provocan daño e inflamación del tejido local. IL23 promueve la regulación por aumento de la metaloproteinasa de la matriz MMP9, aumenta la angiogénesis, reduce la infiltración de linfocitos T CD8+ y ha estado implicada en el desarrollo de tumores cancerosos. Además, junto con IL6 y TGF β 1, IL23 estimula linfocitos T CD4+ sin tratamiento para diferenciarse en linfocitos Th17. A su vez, los linfocitos Th17 producen IL17, una citosina proinflamatoria que potencia el cebado de linfocitos T y estimula la producción

de citosinas proinflamatorias tales como IL1, IL6, TNF-alfa, NOS-2, y también inducen la expresión de quimiosinas que provocan inflamación y la patogénesis de la enfermedad. IL23 ejerce sus efectos mediante un receptor de la superficie celular compuesto de la subunidad IL12 β 1 del receptor de IL12 emparejado con una única subunidad IL23R. La expresión de IL23R se restringe a poblaciones específicas de células inmunitarias y se encuentra principalmente en subconjuntos de linfocitos T (TCR+ $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$) y linfocitos NK.

10

En ratones, la ablación genética del gen IL23p19 provoca la pérdida selectiva de la función de IL23 acompañada por respuestas inmunitarias dependientes de T seriamente comprometidas, que incluyen una producción reducida de inmunoglobulinas específicas del antígeno y respuestas de hipersensibilidad de tipo retardadas disminuidas (Ghilardi N, et ál. (2004) J. Immunol. 172(5): 2827-33). Los ratones inactivados con deficiencia de IL23p40 o IL23p19, o en cualquiera de las subunidades del receptor de IL23 (IL23R e IL12 β 1), desarrollan síntomas menos graves en los modelos animales de esclerosis múltiple, artritis y enfermedad inflamatoria intestinal. Se han obtenido resultados similares mediante el uso de un anticuerpo específico para IL23p19 en EAE y un modelo de colitis mediado por linfocitos T confirma

20

además la función de IL23 en estas configuraciones de enfermedad (Chen Y. et ál. (2006) J. Clin. Invet. 116(5):1317-26; Elson CO. et ál. (2007) Gastroenterology 132(7): 2359-70). Esto resalta la importancia de IL23 en la inflamación crónica (Langowski et ál. (2006) Nature 442 (7101): 461-5; Kikly K, et ál. (2006) Curr. Opin. Immunol. 18 (6): 670-5). Además, la producción elevada de IL23 ha estado implicada como un factor principal en la artritis inflamatoria y en las enfermedades autoinmunitarias inflamatorias (Adamopoulos et ál. (2011) J. Immunol. 187: 593-594; y Langris et ál. (2005) J. Exp. Med. 201:233-240). Se ha publicado una conexión entre IL23, su citosina corriente abajo IL22 y la formación ósea en un sistema de modelos de ratón en el cual se sobreexpresa IL23 (Sherlock et ál. (2012) Nat. Med. 18: 1069-76).

15

El factor de activación de linfocitos B (BAFF, por sus siglas en inglés) es una citosina que pertenece a la superfamilia del ligando del factor de necrosis tumoral (TNF, por sus siglas en inglés) y actúa como el ligando para los receptores BAFF-R (BR3), TACI (activador transmembrana y modulador de calcio e interactor del ligando de ciclofilina) y BCMA (antígeno de maduración de linfocitos B). La interacción entre BAFF y sus receptores activa las señales esenciales para la formación y mantenimiento de los linfocitos B, que, a su vez, sintetizan

20

inmunoglobulinas en respuesta a la invasión por parte de la sustancia foránea. Los niveles adecuados de BAFF en un paciente ayudan a mantener niveles normales de inmunidad mientras que niveles inadecuados pueden conducir a una inmunodeficiencia y niveles excesivos pueden tener como resultados una producción de anticuerpos anómalamente alta. Cuando un paciente exhibe autoinmunidad, produce anticuerpos contra los tejidos u órganos de su propio cuerpo. Las enfermedades autoinmunitarias, que incluyen lupus eritematoso y artritis reumatoide, tienen como resultado niveles excesivos de BAFF en el cuerpo. Por lo tanto, es importante modular la producción de BAFF con el fin de tratar a los pacientes que tienen estas enfermedades.

El BAFF puede existir en tres formas: unido a la membrana (mbBAFF), BAFF trimérico soluble (sBAFF) y una forma multimérica que consiste en 60 monómeros de BAFF (BAFF 60mer). La importancia relativa de las diversas formas de BAFF en una fisiología normal y de enfermedad no se entiende totalmente. Como se observó, el BAFF se une a tres receptores, BAFFR (BR3), TACI y BCMA. Un ligando de inducción de la proliferación (APRIL), un miembro relacionado de la familia del ligando receptor del TNF, mostró unirse con gran afinidad al TACI y BCMA. En contraste con la interacción APRIL:BCMA de gran afinidad, la interacción BAFF:BCMA tiene baja afinidad (1-2

μM) y no se cree que juegue un papel importante in vivo (Bossen y Schneider, 2006).

El BAFF soluble se expresa a niveles altos en individuos con
5 lupus eritematoso sistémico (SLE, por sus siglas en inglés) y
órganos objetivos inflamados tales como el riñón. El BAFF
soluble sirve como un factor crítico para la homeostasis y
supervivencia de linfocitos B (Kalled et ál., 2005; Mackay et
al., 2003; Smith and Cancro, 2003; Patke et ál., 2004). La
10 formación de anticuerpos por parte de los linfocitos B
dependientes de BAFF tiene como resultado los depósitos de IC
glomerulares, inicialmente en la membrana basal glomerular
(GBM, por sus siglas en inglés), tejido del mesangio e
intersticial dentro de las células epiteliales tubulares
15 proximales (PTEC, por sus siglas en inglés) Estos depósitos de
IC conducen a una fijación del complemento y activación de
neutrófilos que tiene como resultado un daño renal local. Los
mediadores inflamatorios (por ejemplo, IL6, IL8, MCP-1)
producidos por las células renales dañadas (MC, PTEC,
20 fibroblastos renales, células endoteliales) alimentan un ciclo
inflamatorio mediante el aumento en la infiltración de células
inmunitarias (por ejemplo, linfocitos B, linfocitos T, células
dendítricas, neutrófilos y macrófagos).

El anticuerpo monoclonal anti-BAFF belimumab (Benlysta®) tiene la capacidad demostrada de disminuir la formación de autoanticuerpos y brinda un beneficio significativo a los pacientes con lupus eritematoso sistémicos (SLE). Sin embargo, la eficacia de belimumab en pacientes con SLE es moderada como mucho y existe sustancialmente mucho para mejorar (Furie et ál., 2011). Por lo tanto, aún existe una necesidad de nuevas composiciones con una mayor eficacia para tratar y prevenir enfermedades autoinmunitarias o inflamatorias. Adicionalmente, la identificación de tratamientos más eficaces debería permitir la administración de dosificaciones reducidas, así como costos más bajos asociados al tratamiento.

COMPENDIO

15

En la presente se proporcionan compuestos específicos para BAFF e IL23, composiciones que comprenden dichos compuestos, así como también métodos para utilizarlos y producirlos.

20 Los aspectos de la descripción se refieren a un compuesto que comprende un primer polipéptido y un segundo polipéptido donde:

(A) dicho primer polipéptido comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína objetivo;

5 (ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína objetivo; y

(iii) una región bisagra, una región constante de cadena pesada
10 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y

(B) dicho segundo polipéptido comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda
15 inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína objetivo;

(ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera
inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína
20 objetivo;

donde:

a) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión

que se une a dicha primera proteína objetivo;

b) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha segunda proteína objetivo;

5

c) dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y un ácido glutámico en la posición 256, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat; y

10

d) dicha primera proteína objetivo es BAFF y dicha segunda proteína objetivo es IL-23A o dicha primera proteína objetivo es IL-23A y dicha segunda proteína objetivo BAFF,

15 y donde:

(i) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:2, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:1, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

20

(ii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:2 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:1; o

(iii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:85, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:84, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:4; o

5 (iv) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:85 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:84; o

(v) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:87, dicho VH1 comprende
10 la SEQ ID NO:86, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

(vi) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:87 y dicho
15 VH2 comprende la SEQ ID NO:86; o

(vii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:89, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:88, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

20

(viii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:89 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:88; o

(xi) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:91, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:90, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

- 5 (x) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:91 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:90.

En algunas modalidades, dicho primer polipéptido comprende
10 además un primer enlazador entre dicho VL1 y dicho VH2 y dicho segundo polipéptido comprende además un segundo enlazador entre dicho VL2 y dicho VH1. En algunas modalidades, dicho primer enlazador o dicho segundo enlazador comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades,
15 dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer polipéptido comprende además un tercer enlazador entre dicho VH2 o dicho VL1 y dicha región bisagra, y dicho segundo polipéptido además comprende un cuarto
20 enlazador luego de dicho VH1 (en su extremo C) o dicho VL2 (en su extremo C). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) y dicho cuarto enlazador de dicho segundo polipéptido comprende

la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En otras modalidades, dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83)

5 y dicho cuarto enlazador de dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82)

10 o la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En otras modalidades, dicho cuarto enlazador de dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) o la

15 secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador comprende la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72) o la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71). En algunas modalidades, dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de

20 aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71) o la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador comprende la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72) y dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71)

En algunas modalidades, dicho primer polipéptido comprende además un dominio de región constante de cadena pesada 1 (CH1) entre dicho VH2 o dicho VL1 (dependiendo de la configuración) y la región bisagra y dicho segundo polipéptido además
5 comprende un dominio de región constante de cadena ligera (CL) en el extremo C de dicho VH1 o VL2 (dependiendo de la configuración), donde dicho CL y dicho CH1 se asocian mediante un enlace disulfuro para formar un dominio C1. En algunas modalidades, dicho primer enlazador (entre dicho VL1 y dicho
10 VH2) o dicho segundo enlazador (entre dicho VL2 y dicho VH1) comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer polipéptido
15 comprende además un tercer enlazador entre dicho VH2 o dicho VL1 (dependiendo de la configuración) y dicho CH1, y dicho segundo polipéptido comprende además un cuarto enlazador entre dicho VH1 o dicho VL2 (dependiendo de la configuración) y dicho CL. En algunas modalidades, dicho tercer enlazador o dicho
20 cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70) En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70) En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprende un residuo de

cisteína opcional. En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGCGGG (SEQ ID NO:135) o LGGCGGGS (SEQ ID NO:136).

5

En algunas modalidades, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat para un anticuerpo convencional.

10

En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de dicha región bisagra, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) o dicha región constante de cadena pesada 3 (CH3) se obtiene a partir de IgG1 o de IgG4. En algunas modalidades, dicha región

15 bisagra comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76). La región bisagra de la SEQ ID NO:76 se encuentra en, por ejemplo, el polipéptido de la SEQ ID NO:5.

En otras modalidades, la región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130). La región

20 bisagra de la SEQ ID NO:130 se encuentra en, por ejemplo, el polipéptido de la SEQ ID NO:9. En aun otras modalidades, la región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134). La región bisagra de la SEQ ID NO:134 se encuentra en, por ejemplo, el polipéptido de la SEQ

ID NO:13.

En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, donde
5 dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro. En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, donde dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace
10 disulfuro y donde cada uno de dicho primer polipéptido se asocia a uno de dicho segundo polipéptido mediante al menos un enlace disulfuro.

En algunas modalidades,

15

- (i) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o
- 20 (ii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; o
- (iii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:9 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; o

(iv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:11 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; o

(v) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:13 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14; o

(vi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:15 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:16; o

15

(vii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:17 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; o

20 (viii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:19 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20; o

(ix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:21 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22; o

(x) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23 y dicho segundo polipéptido
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24; o

(xi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26; o

(xii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28; o

15

(xiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; o

20 (xiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; o

(xv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:33 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

(xvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:35 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; o

(xvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:37 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38; o

(xviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:39 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; o

15

(xix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:41 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

20 (xx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:43 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44; o

(xxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:45 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

(xxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:47 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o

(xxiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:49 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

(xxiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:51 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; o

15

(xxv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:53 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

20 (xxvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:55 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

(xxvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:57 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

(xxviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

(xxix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

(xxx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

(xxxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

(xxxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho

primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, donde dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro.

5 En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, y donde la bisagra, la CH2 y CH3, de uno de los primeros polipéptidos se asocia con la bisagra, CH2 y CH3, del otro de los primeros polipéptidos para formar una molécula tetravalente. En algunas

10 modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, donde cada uno de dicho primer polipéptido comprende una CH1, una bisagra, una CH2 y una CH3 y cada uno de dicho segundo polipéptido comprende una CL y donde la bisagra, la CH2 y la CH3 de uno

15 del primer polipéptido se asocia a la bisagra, la CH2 y la CH3 del otro del primer polipéptido y la CH1 de cada primer polipéptido se asocia a la CL de dicho segundo polipéptido para formar una molécula tetravalente (por ejemplo, un monómero, un anticuerpo monomérico como se describe en la sección de

20 Ejemplos) (por ejemplo, compuestos E y V). En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, donde cada uno de dicho primer polipéptido comprende un tercer enlazador, una bisagra, una CH2 y una CH3 y cada uno de dicho segundo

polipéptido comprende un cuarto enlazador y donde la bisagra, la CH₂ y la CH₃ de uno del primer polipéptido se asocia a la bisagra, la CH₂ y la CH₃ del otro del primer polipéptido y el tercer enlazador de cada primer polipéptido se asocia al cuarto enlazador de uno de dicho segundo polipéptido para formar una molécula tetravalente (por ejemplo, un monómero, un anticuerpo monomérico como se describe en la sección de Ejemplos) (por ejemplo, compuestos U y T).

10 Otros aspectos de la descripción se refieren a un primer compuesto que compite con un segundo compuesto para unirse a IL-23A y a BAFF, donde dicho primer compuesto comprende un tercer polipéptido y un cuarto polipéptido, donde:

15 (A) dicho tercer polipéptido comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína objetivo;

20

(ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína objetivo; y

(iii) una región bisagra, una región constante de cadena pesada 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y

(B) dicho cuarto polipéptido comprende:

5

(i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína objetivo;

10 (ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína objetivo;

y donde

15

(i) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha primera proteína objetivo;

(ii) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión
20 que se une a dicha segunda proteína objetivo; y

(iii) dicha primera proteína objetivo es BAFF y dicha segunda proteína objetivo es IL-23A o dicha primera proteína objetivo es IL-23A y dicha segunda proteína objetivo BAFF,

y donde dicho segundo compuesto comprende un primer polipéptido y un segundo polipéptido, donde:

(i) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o

(ii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; o

(iii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; o

(iv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; o

(v) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14; o

(vi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:15 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:16; o

(vii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:17 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; o

(viii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:19 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20; o

(ix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:21 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22; o

15

(x) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:23 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24; o

20 (xi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:25 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26; o

(xii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:27 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28; o

(xiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:29 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; o

(xiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:31 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; o

(xv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:33 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

15

(xvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:35 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; o

20 (xvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:37 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38; o

(xviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:39 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; o

(xix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y dicho segundo polipéptido
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

(xx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44; o

(xxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o
15

(xxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o

(xxiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49 y dicho segundo polipéptido
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

(xxiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:51 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; o

(xxv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:53 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

(xxvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:55 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

(xxvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:57 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

15

(xxviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:59 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

20 (xxix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:61 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

(xxx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:63 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

(xxxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

(xxxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

Otros aspectos de la descripción se relacionan con un compuesto que comprende dos del primer polipéptido y dos del segundo polipéptido;

donde dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro y donde cada uno de dicho primer polipéptido se asocia a uno de dicho segundo polipéptido mediante al menos un enlace disulfuro;

donde cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína

objetivo;

(ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína

5 objetivo;

(iii) una región constante de cadena pesada 1 (CH1), una región bisagra, una región constante de cadena pesada 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y

10

donde cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína

15 objetivo;

(ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína objetivo;

20

(iii) un dominio de región constante de cadena ligera (CL);

donde la bisagra, la CH2 y la CH3 de uno de los primeros polipéptidos se asocia con la bisagra, CH2 y CH3 del otro de

los primeros polipéptidos y la CH1 de cada uno de dichos primeros polipéptidos se asocia con el CL de dichos segundos polipéptidos para formar una molécula tetravalente;

5 donde

a) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha primera proteína objetivo;

10 b) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha segunda proteína objetivo;

c) dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición
15 254 y ácido glutámico en la posición 256, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat; y

d) dicha primera proteína objetivo es BAFF y dicha segunda proteína objetivo es IL-23A o dicha primera proteína objetivo
20 es IL-23A y dicha segunda proteína objetivo BAFF,

y donde:

(i) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:2, dicho VH1 comprende la

SEQ ID NO:1, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

(ii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende
5 la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:2 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:1; o

(iii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:85, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:84, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho
10 VH2 comprende la SEQ ID NO:4; o

(iv) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:85 y dicho
VH2 comprende la SEQ ID NO:84; o

15

(v) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:87, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:86, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho
VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

20 (vi) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:87 y dicho
VH2 comprende la SEQ ID NO:86; o

(vii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:89, dicho VH1 comprende

la SEQ ID NO:88, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

(viii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:89 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:88; o

(ix) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:91, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:90, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

(x) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:91 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:90.

15

En algunas modalidades que se relacionan con el aspecto anterior, cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende además un primer enlazador entre dicho VL1 y dicho VH2 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende además un segundo enlazador entre dicho VL2 y dicho VH1. En algunas modalidades, dicho primer enlazador o dicho segundo enlazador comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69).

20

En algunas modalidades, cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende además un tercer enlazador entre dicho VH2 (o dicho VL1) y dicha CH1, y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende además un cuarto enlazador entre dicho
5 VH1 (o dicho VL2) y dicha CL. En algunas modalidades, dicho tercer enlazador o dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70) En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70)
10 En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprende un residuo de cisteína opcional. En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGCGGG (SEQ ID NO:135) o LGGCGGGS (SEQ ID NO:136). En algunas modalidades, dicha
15 región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat. En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de dicha región bisagra, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) o dicha región
20 constante de cadena pesada 3 (CH3) se obtiene a partir de IgG1 o de IgG4. En algunas modalidades, dicha región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76), la secuencia de aminoácidos LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130) o la secuencia de aminoácidos ESKYGPPCPPCP (SEQ ID

NO:134) .

En algunas modalidades,

- 5 (i) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:6; o
- 10 (ii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:8; o
- 15 (iii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:14; o
- 20 (iv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:15 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:16; o

(v) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22; o

5

(vi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26; o

10

(vii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; o

15

(viii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

20

(ix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38; o

(x) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

5

(xi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

10

(xii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

15

(xiii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

20

(xiv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

(xv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

5

(xvi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

10

(xvii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

15

(xviii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

20

(xix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

(xx) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

5

Otros aspectos de la descripción se relacionan con un compuesto que comprende dos del primer polipéptido y dos del segundo polipéptido; donde dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro y donde cada uno de dichos primeros polipéptidos se asocia a uno de dichos segundos polipéptidos mediante al menos un enlace de disulfuro; y donde (i) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o

15

(ii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; o

20

(iii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de

SEQ ID NO:14; o

(iv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:15 y cada uno de dichos
5 segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:16; o

(v) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 y cada uno de dichos
10 segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:22; o

(vi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y cada uno de dichos
15 segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:26; o

(vii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y cada uno de dichos
20 segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:30; o

(viii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y cada uno de dichos

segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:34; o

(ix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:38; o

(x) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:42; o

(xi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:46; o

(xii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
20 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:50; o

(xiii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

5 (xiv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

10 (xv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

15 (xvi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

20 (xvii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

(xviii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

5

(xix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

10

(xx) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

15

Otros aspectos de la descripción se relacionan con un compuesto que comprende dos del primer polipéptido y dos del segundo polipéptido;

20

donde dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro y donde cada uno de dicho primer polipéptido se asocia a uno de dicho segundo polipéptido mediante al menos un enlace disulfuro;

donde cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende:

(iv) un dominio variable de cadena ligera de una primera
inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína
5 objetivo;

(v) un dominio variable de cadena pesada de una segunda
inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína
objetivo;

10

(vi) una región bisagra, una región constante de cadena pesada
2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y

donde cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende:

15

(i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda
inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína
objetivo; y

20 (ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera
inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína
objetivo;

donde la bisagra, la CH2 y CH3 de uno del primer polipéptido

se asocia con la bisagra, la CH2 y la CH3 del otro del primer polipéptido y;

donde

5

e) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha primera proteína objetivo;

f) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión
10 que se une a dicha segunda proteína objetivo;

g) dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y ácido glutámico en la posición 256, numeradas de acuerdo
15 con el índice EU de Kabat; y

h) dicha primera proteína objetivo es BAFF y dicha segunda proteína objetivo es IL-23A o dicha primera proteína objetivo es IL-23A y dicha segunda proteína objetivo BAFF,

20

y donde:

(i) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:2, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:1, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2

comprende la SEQ ID NO:3; o

(ii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:2 y dicho VH2
5 comprende la SEQ ID NO:1; o

(iii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:85, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:84, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:4; o
10

(iv) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:85 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:84; o

15 (v) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:87, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:86, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

(vi) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende
20 la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:87 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:86; o

(vii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:89, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:88, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho

VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

(viii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:89 y dicho

5 VH2 comprende la SEQ ID NO:88; o

(ix) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:91, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:90, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

10

(x) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:91 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:90.

15 En algunas modalidades que se relacionan con el aspecto anterior, cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende además un primer enlazador entre dicho VL1 y dicho VH2 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende además un segundo enlazador entre dicho VL2 y dicho VH1. En algunas modalidades,

20 dicho primer enlazador o dicho segundo enlazador comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, cada uno de dichos primeros

polipéptidos comprende además un tercer enlazador entre dicho
 VH2 o dicho VL1 y dicha región bisagra, y cada uno de dichos
 segundos polipéptidos comprende además un cuarto enlazador en
 el extremo C de dicho VH1 o dicho VL2. En algunas modalidades,
 5 dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido comprende
 la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK
 (SEQ ID NO:82) y dicho cuarto enlazador de dicho segundo
 polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos
 GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En otras
 10 modalidades, dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido
 comprende la secuencia de aminoácidos
 GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83) y dicho
 cuarto enlazador de dicho segundo polipéptido comprende la
 secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK
 15 (SEQ ID NO:82). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador
 de dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
 aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82)
 o la secuencia de aminoácidos
 GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En otras
 20 modalidades, dicho cuarto enlazador de dicho segundo
 polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos
 GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) o la
 secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
 (SEQ ID NO:83). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador

comprende la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72) o la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71). En algunas modalidades, dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71) o la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador comprende la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72) y dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71) En algunas modalidades, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat. En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de dicha región bisagra, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) o dicha región constante de cadena pesada 3 (CH3) se obtiene a partir de IgG1 o de IgG4. En algunas modalidades, dicha región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76), la secuencia de aminoácidos LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130) o la secuencia de aminoácidos ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134). En algunas modalidades, (i) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; o

(ii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; o

5 (iii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; o

10 (iv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20; o

15 (v) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24; o

20 (vi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28; o

(vii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; o

5

(viii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; o

10

(ix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; o

15

(x) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44; o

20

(xi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o

(xii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52.

5

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto descrito anteriormente.

10 Otros aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una enfermedad autoinmuntaria o inflamatoria que comprende administrar un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto descrito anteriormente, o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto a un sujeto.

15

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto descrito anteriormente, para su uso en la medicina. En algunas modalidades, dicho uso es el tratamiento de una enfermedad
20 autoinmuntaria o inflamatoria.

Otros aspectos de la descripción se refieren a una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto descrito anteriormente, para

su uso en la medicina. En algunas modalidades, dicho uso es el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria.

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido descrito en la presente, tal como un polipéptido descrito anteriormente. Otros aspectos de la invención se refieren a un vector que comprende dichos ácidos nucleicos. En algunas modalidades, el vector comprende un promotor enlazado de forma operativa a dicho ácido nucleico. Otros aspectos de la invención se refieren a una célula que comprende dichos ácido nucleico o dicho vector.

Otros aspectos de la descripción se refieren a un método para producir un compuesto o polipéptido tal como se describe en la presente, tal como un polipéptido descrito anteriormente, que comprende obtener una célula descrita en la presente, tal como una célula descrita anteriormente, y expresar un ácido nucleico tal como se describe en la presente en dicha célula. En algunas modalidades, el método comprende además aislar y purificar dicho polipéptido o compuesto.

Los detalles de una o más modalidades de la descripción se establecen en la descripción a continuación. Otras

características o ventajas de la presente descripción resultarán evidentes a partir de las siguientes figuras y la descripción detallada de diversas modalidades y también a partir de las reivindicaciones adjuntas.

5

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las siguientes figuras forman parte de la presente memoria descriptiva y están incluidos para mostrar adicionalmente
10 determinados aspectos de la presente descripción, que pueden entenderse mejor mediante la referencia a una o más de estas figuras en combinación con la descripción detallada de las modalidades específicas presentadas en la presente.

15 La Figura 1A es un diagrama de un compuesto de ejemplo específico para BAFF e IL23A. La primera cadena de polipéptidos contiene los dominios de CH₃, CH₂, VH₂ (VH_{II}) y VL₁ (VL_I). La segunda cadena de polipéptidos contiene los dominios de VH₁ (VH_I) y VL₂ (VL_{II}). VL₁ y VH₁ son específicos para una primera
20 proteína objetivo (ya sea BAFF o IL23A) y VL₂ y VH₂ son específicos para una segunda proteína objetivo (ya sea IL23A o BAFF). El panel superior muestra cada cadena de polipéptidos por separado. El panel inferior muestra un compuesto tetravalente (por ejemplo, monómero, un anticuerpo monomérico

como se describe en la sección de Ejemplos) formado a través de la asociación de los dominios de CH2 y CH3 de un primer polipéptido con los dominios CH2 y CH3 de otro primer polipéptido. Los dominios de unión para la primera y la segunda proteína objetivo se forman a través de la asociación de VH₁ y VL₁ y a través de la asociación de VH₂ y VL₂, respectivamente.

La Figura 1B es un diagrama de otro compuesto de ejemplo específico para BAFF e IL23A. La primera cadena de polipéptidos contiene los dominios de CH3, CH2, CH1, VH2 (VH_{II}) y VL₁ (VL_I). La segunda cadena de polipéptidos contiene los dominios de CL, VH₁ (VH_I) y VL₂ (VL_{II}). VL₁ y VH₁ son específicos para una primera proteína objetivo (ya sea BAFF o IL23A) y VL₂ y VH₂ son específicos para una segunda proteína objetivo (ya sea IL23A o BAFF). El panel superior muestra cada cadena de polipéptidos por separado. El panel inferior muestra un compuesto tetravalente (por ejemplo, monómero, un anticuerpo monomérico como se describe en la sección de Ejemplos) formado a través de la asociación de los dominios de CH2 y CH3 de un primer polipéptido con los dominios CH2 y CH3 de otro primer polipéptido. Los dominios de unión para la primera y la segunda proteína objetivo se forman a través de la asociación de VH₁ y VL₁ y a través de la asociación de VH₂ y VL₂, respectivamente. El compuesto se asocia a través de las interacciones entre los

dominios de CL y CH1.

La Figura 2 es una gráfica que muestra las concentraciones en suero (media $\pm$ SD) para el Compuesto A (cuadrados cerrados), el Compuesto B (cuadrados abiertos), el Compuesto C (triángulos cerrados) y el Compuesto D (triángulos abiertos) en monos cynomolgus luego de una dosis intravenosa de 1 mg/kg única, como se describe en el Ejemplo 10.

La Figura 3 muestra el perfil de concentración-tiempo de suero humano previsto del Compuesto B, luego de una dosis s.c. de 100 mg administrada una vez cada dos semanas, como se describe en el Ejemplo 11. La línea punteada representa el $C_{\min}$ objetivo (30 nM).

15

La Figura 4 muestra el resumen gráfico del porcentaje de monómeros con respecto a la concentración para el Compuesto B, como se describe en el Ejemplo 14.

La Figura 5 muestra que el Compuesto B mantiene potencia funcional con respecto a anti-BAFF in vivo. Los ratones se dosificaron de forma equimolar con ya sea anti-BAFF o el Compuesto B y se estimuló con minicírculos de BAFF humano para inducir la expansión de linfocitos B. En el día 14 los bazo

se recolectaron y se analizaron mediante citometría de flujo para determinar linfocitos B B220+ como una medida de bloqueo funcional de BAFF.

5 La Figura 6 muestra que el Compuesto B mantiene potencia funcional con respecto a anti-IL23 in vivo. Evaluación del Compuesto B en el ensayo de citosina inducida por IL23. Los ratones se dosificaron de forma equimolar con ya sea anti-IL23 o el Compuesto B y se estimularon con IL23 humanos dos veces
10 para inducir la inflamación del oído. Veinticuatro horas después de la inyección final, se recolectaron las orejas y se analizaron para detectar IL17A de ratón e IL22 de ratón como medición del bloqueo funcional de IL23.

15 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Se describen en la presente compuestos que se unen a BAFF e IL-23A (también designado como IL23p19 o IL23A). En la actualidad, no existen compuestos aprobados que se dirijan a
20 BAFF e IL23A. Existen estudios limitados con neutralización simultánea de dos/más mediadores inflamatorios clave que utilizan un enfoque bioterapéutico y estos estudios no pudieron mostrar mejoras en los resultados clínicos que se midieron para la artritis reumatoide (RA). Además, dichas combinaciones

pueden aumentar los efectos secundarios, tal como el riesgo a una infección (ver, por ejemplo, Genovese, M.C., Cohen, S., Moreland, L., Lium, D., Robbins, S., et ál. (2004). Arth. Rheum. 50, 1412-9; Genovese, M.C., Cohen, S., Moreland, L., Lium, D., Robbins, S., et ál. (2004). Arth. Rheum. 50, 1412-9; and Weinblatt, M., Schiff, M., Goldman, A. Kremer, J., Luggen, M., et ál. (2007) Ann.Rheum.Dis.66, 228-34)). Además, dichos compuestos biespecíficos han sido difíciles de diseñar debido a problemas relacionados con la solubilidad (por ejemplo, agregación) y la estabilidad (por ejemplo, farmacocinética deficiente).

De manera sorprendente, se descubrió que algunos de los compuestos descritos en la presente que se unen a BAFF y a IL-23A tienen propiedades similares o mejoradas en comparación con anticuerpos individuales que se dirigen a IL-23A o BAFF. También se descubrió que algunos compuestos tienen una farmacocinética adecuada y son solubles en intervalos adecuados a los efectos de la dosificación. Además, en algunas modalidades, hay ventajas de la administración única con respecto a la administración de múltiples dosis individuales desde la perspectiva de los efectos secundarios de las terapias individuales, y de una menor dosificación. Además, en algunas modalidades, las propiedades de CMC de los compuestos

demonstraron que algunos compuestos tuvieron temperaturas de fusión altas (T_m) y baja agregación. En un aspecto, un compuesto de ejemplo mostró una agregación particularmente baja en concentraciones altas. Se considera que los compuestos descritos en la presente tienen una o más propiedades favorables, por ejemplo, efectos secundarios disminuidos, facilidad y seguridad de administración mejorada, una semivida aumentada, una afinidad de unión aumentada o una actividad inhibidora aumentada, en comparación con moléculas de anticuerpos estándares, por ejemplo, una molécula de IgG o un fragmento de unión al antígeno (por ejemplo, Fab).

Por consiguiente, los aspectos de la descripción se refieren a compuestos específicos para BAFF e IL-23A, así como a métodos para el uso y la producción de dichos compuestos. En un aspecto, la tecnología objeto se relaciona con composiciones con una eficacia mayor para el tratamiento y prevención de enfermedades autoinmunitarias o inflamatorias, tales como lupus eritematoso sistémico (SLE), lupus eritematoso sistémico con compromiso renal/lupus nefrítico (LN), vasculitis asociada con ANCA (AAV, por sus siglas en inglés), síndrome de Sjogren primario (pSS), enfermedad de injerto contra huésped crónica (cGVHD, por sus siglas en inglés), esclerosis sistémica (SSc, por sus siglas en inglés), artritis reumatoide (RA, por sus siglas en inglés),

soriasis (Ps), espondilitis anquilosante (AS, por sus siglas en inglés) y artritis soriática (PA, por sus siglas en inglés). Un antagonista dual de BAFF/IL23A inhibirá el complejo de autoanticuerpos/inmunitario y el daño final a los órganos

5 mediado por el eje de IL23 y puede lograr una inducción superior y mantenimiento de la respuesta clínica que el Estándar de Cuidados actual para el tratamiento de SLE y LN. En comparación con la coadministración de un anticuerpo BAFF y un anticuerpo IL-23 para inhibir ambas vías al mismo tiempo, un antagonista

10 dual de BAFF/IL23A es más conveniente para el paciente que puede conducir a un mejor cumplimiento y a la reducción del dolor. Un antagonista dual de BAFF/IL23A debería permitir la administración de dosificaciones reducidas, así como también costos más bajos asociados al tratamiento. Además, un

15 antagonista de BAFF/IL23A también puede ser beneficioso en el tratamiento de un grupo de enfermedades que implica linfocitos B/autoanticuerpos desregulados y daño al tejido mediado por IL-23 que incluye síndrome primario de Sjogren (pSS), enfermedad de injerto contra huésped (cGVHD), esclerosis

20 sistémica (SSc) y vasculitis asociada con ANCA (AAV).

Es difícil diseñar una molécula terapéutica de direccionamiento doble que junta dos entidades farmacológicas y mantiene la potencia funcional de cada componente, mientras que tiene, al

mismo tiempo, propiedades biofísicas adecuadas para la fabricación a gran escala. El desarrollo de moléculas de direccionamiento doble se ha visto obstaculizado por varios problemas relacionados con la estabilidad in vitro e in vivo, tales como una expresión, agregación insuficientes, vida útil limitada, estabilidad en suero insuficiente y propiedades farmacocinéticas insuficientes in vivo (Demarest SJ, Glaser SM. (2008). Curr Opin Drug Discov Devel. 11, 675-87).

En la presente, se describe un método para crear moléculas de direccionamiento doble que inhiben la función de BAFF y IL23. La moléculas de direccionamiento doble de la tecnología objeto tienen propiedades ventajosas y sorprendentes tales como temperaturas de fusión altas (T_m), agregación baja en concentraciones altas y propiedades PK humanas previstas que permiten una administración s.c. de una vez cada dos semanas o menos frecuente.

Compuestos

20

Los aspectos de la descripción se relacionan con un compuesto específico para BAFF e IL23A. A continuación se muestra una secuencia de proteínas de ejemplo para BAFF y una secuencia proteica ilustrativa para IL23A.

Factor de activación de linfocitos B >sp|Q9Y275| (BAFF) -
 TN13B_HUMAN Miembro de la superfamilia del ligando del factor
 de necrosis tumoral 13B OS=Homo sapiens GN=TNFSF13B PE=1 SV=1

5 MDDSTEREQSRLTSCCLKREEMKLKECVSILPRKESPSVRSSKDGKLLAATLLALLSCCL
 TVVSFYQVAALQGD LASLRAELQGHHA EKLPAGAGAPKAGLEEAPAVTAGLKIFEPPAPGE
 GNSSQNSRNKRAVQGPEETVTQDCLQLIADSETPTIQKGSYTFVPWLLSFKRGSAALEEKEN
 KILVKETGYFFIYGQVLYTDKTYAMGH LIQRKKVHVFGDELSLVTLFRCIQNMPETLPNNS
 CYSAGIAKLEEGDELQLAIPRENAQISLDGDVTFFGALKLL (SEQ ID NO:80)

10

>NP_057668.1 - IL23A [Homo sapiens]

MLGSRAVM LLLLLLPWTAQGRAVPGGSSPAWTQCQQLSQKLCTLAWSAHPLVGHMDLREEGD
 EETTNDVPHIQCGDGC DPQGLRDNSQFCLQRIHQGLIFYEKLLGSDIFTGEP SLLPDSPVG
 15 QLHASLLGLS QLLQPEGHHWETQQIPSLSPSQPWQRLLLRFKILRSLQAFVAVAA RVFAHG
 AATLSP (los aminoácidos 1-19 son una secuencia de señal
 prevista) (SEQ ID NO:81)

En algunas modalidades, el compuesto comprende un primer
 20 polipéptido y un segundo polipéptido. En algunas modalidades,
 el primer polipéptido comprende (i) un dominio variable de
 cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico
 para una primera proteína objetivo, (ii) un dominio variable
 de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2)

específico para una segunda proteína objetivo; y (iii) una región bisagra, una región constante de cadena pesada 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3). En algunas modalidades, el primer polipéptido comprende además una región
5 constante de cadena pesada 1 (CH1). En algunas modalidades, el segundo polipéptido comprende: (i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda inmunoglobulina (VL2) específico para la segunda proteína objetivo; (ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera inmunoglobulina (VH1) específico
10 para la primera proteína objetivo. En algunas modalidades, el segundo polipéptido comprende además una región constante de cadena ligera (CL).

Debe entenderse que los dominios variables y los
15 dominios/regiones constantes del primer polipéptido pueden estar en cualquier orden y que los dominios variables y los dominios/regiones constantes (si los hay) del segundo polipéptido pueden estar en cualquier orden. A continuación se muestran múltiples configuraciones de ejemplo para los
20 dominios/regiones en el primer y el segundo polipéptido desde el extremo N al extremo C.

Configuración 1 del primer polipéptido: N-VL1-VH2-bisagra-CH2-CH3-C

Configuración 2 del primer polipéptido: N-VH2-VL1-bisagra-CH2-CH3-C

Configuración 3 del primer polipéptido: N-VL1-VH2-CH1-bisagra-CH2-CH3-C

Configuración 4 del primer polipéptido: N-VH2-VL1-CH1-bisagra-CH2-CH3-C

Configuración 1 del segundo polipéptido: N-VL2-VH1-C

Configuración 2 del segundo polipéptido: N-VH1-VL2-C

Configuración 3 del segundo polipéptido: N-VL2-VH1-CL-C

Configuración 4 del segundo polipéptido: N-VH1-VL2-CL-C

Las configuraciones de ejemplo del compuesto se muestran en las Figuras 1A y 1B.

En algunas modalidades, las regiones variables del primer polipéptido y el segundo polipéptido se asocian entre sí para formar un sitio de unión para la primera proteína objetivo y un sitio de unión para la segunda proteína objetivo. En algunas modalidades, el VL1 del primer polipéptido y el VH1 del segundo

polipéptido se asocian para formar un sitio de unión que se une a la primera proteína objetivo, y el VL2 del segundo polipéptido y el VH2 del primer polipéptido se asocian para formar un sitio de unión que se une a la segunda proteína objetivo. En algunas modalidades, la primera proteína objetivo es BAFF y la segunda proteína objetivo es IL23A. En otras modalidades, la primera proteína objetivo es IL23A y la segunda proteína objetivo es BAFF. Se entenderá que no se pretende que los términos "primera" y "segunda" impliquen un nivel de importancia para cada proteína objetivo.

A continuación se proporcionan combinaciones de ejemplo de secuencias para cada VL1, VH1, VL2 y VH2 en la Tabla 1 y también en la Tabla 2 en el Ejemplo 1.

Tabla 1. Combinaciones de ejemplo de secuencias para VL1, VH1, VL2 y VH2.

Número de la combinación	secuencia de VL1	secuencia de VH1	secuencia de VL2	secuencia de VH2
1	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3
2	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:1
3	SEQ ID NO:85	SEQ ID	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO:

		NO:84		3
4	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:85	SEQ ID NO:84
5	SEQ ID NO:87	SEQ ID NO:86	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3
6	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:87	SEQ ID NO:86
7	SEQ ID NO:89	SEQ ID NO:88	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3
8	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:89	SEQ ID NO:88
9	SEQ ID NO:91	SEQ ID NO:90	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3
10	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:91	SEQ ID NO:90

En algunas modalidades, el compuesto comprende una secuencia de VL1 que comprende una primera cadena ligera CDR1, CDR2 y CDR3 y una secuencia de VH1 que comprende una primera cadena pesada CDR1, CDR2 y CDR3, una secuencia de VL2 que comprende una segunda cadena ligera CDR1, CDR2 y CDR3 y una secuencia de VH2 que comprende una segunda cadena pesada CDR1, CDR2 y CDR3. En algunas modalidades, las CDR son CDR de una o más de las secuencias de VL1, VH1, VL2 y VH2 proporcionadas en la Tabla 1. A continuación se muestran las secuencias de CDR de cadena ligera y cadena pesada de ejemplo para las secuencias de VL1,

VH1, VL2 y VH2 proporcionadas en la Tabla 1:

SEQ ID NO: 1 CDR: GGTFNNNAIN (SEQ ID NO:92) (CDR1),
 GIIPMFGTAKYSQNFQG (SEQ ID NO:93) (CDR2), SRDLLLFPHHALSP (SEQ
 5 ID NO:94) (CDR3)

SEQ ID NO: 2 CDR: QGDSLRSYYAS (SEQ ID NO:95) (CDR1), GKNNRPS
 (SEQ ID NO:96) (CDR2), SSRDSSGNHWV (SEQ ID NO:97) (CDR3)

10 SEQ ID NO: 3 CDR: GYTFTDQTIH (SEQ ID NO:98) (CDR1),
 YIYPRDDSPKYNEKFKG (SEQ ID NO:99) (CDR2), PDRSGYAWFIY (SEQ ID
 NO:100) (CDR3)

SEQ ID NO: 4 CDR: KASRDVAIAVA (SEQ ID NO:101) (CDR1), WASTRHT
 15 (SEQ ID NO:102) (CDR2), HQYSSYPFT (SEQ ID NO:103) (CDR3)

SEQ ID NO: 84 CDR: DHIFSIHWMQ (SEQ ID NO:104) (CDR1),
 EIFPGSGTTDYNEKFKG (SEQ ID NO:105) (CDR2), GAFDY (SEQ ID NO:106)
 (CDR3)

20

SEQ ID NO: 85 CDR: RASQDIGNRLS (SEQ ID NO:107) (CDR1 ATSSLDS
 (SEQ ID NO:108) (CDR2), LQYASSPFT (SEQ ID NO:109) (CDR3)

SEQ ID NO: 86 CDR: DHIFSIHWMQ (SEQ ID NO:110) (CDR1),

EIFPGSGTTDYNEKFKG (SEQ ID NO:111) (CDR2), GAFDY (SEQ ID NO:
112) (CDR3)

SEQ ID NO: 87 CDR: RASQDIGNRLN (SEQ ID NO:112) (CDR1 ATSSLDS
5 (SEQ ID NO:113) (CDR2), LQYASSPFT (SEQ ID NO:114) (CDR3)

SEQ ID NO: 88 CDR: GYSFSTFFIH (SEQ ID NO:115) (CDR1),
RIDPNSGATKYNEKFES (SEQ ID NO:116) (CDR2), GEDLLIRTDALDY (SEQ
ID NO:117) (CDR3)

10

SEQ ID NO: 89 CDR: KASQNAGIDVA (SEQ ID NO:118) (CDR1), SKSNRYT
(SEQ ID NO: 119) (CDR2), LQYRSYPRT (SEQ ID NO:120) (CDR3)

SEQ ID NO: 90 CDR: GYSFSTFFIH (SEQ ID NO:121) (CDR1),
15 GRIDPNSGATKYNEKFES (SEQ ID NO:122) (CDR2), GEDLLIRTDALDY (SEQ
ID NO:123) (CDR3)

SEQ ID NO: 91 CDR: KASQNAGIDVA (SEQ ID NO:124) (CDR1), SKSNRYT
(SEQ ID NO:125) (CDR2), LQYRSYPRT (SEQ ID NO:126) (CDR3)

20

En algunas modalidades, el compuesto comprende un VH1, VL1,
VH2 y/o VL2 que comprende una secuencia que es al menos 80 %
(por ejemplo, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %)
idéntica (residuo por residuo para la longitud total de la

secuencia) a la secuencia descrita en la Tabla 1. El "porcentaje de identidad" de dos secuencias de aminoácidos se determina mediante el uso del algoritmo de Karlin y Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 87:2264-68, 1990, modificada tal como en Karlin y Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 90:5873-77, 1993. Dicho algoritmo se incorpora en los programas NBLAST y XBLAST (versión 2.0) de Altschul, et ál. J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990. Las búsquedas de proteínas BLAST pueden realizarse con el programa XBLAST, valor=50, longitud de palabra=3 para obtener secuencias de aminoácidos homólogas a las moléculas de las proteínas de interés. Cuando existen huecos entre dos secuencias, es posible utilizar Gapped BLAST tal como se describe en Altschul et ál., Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402, 1997. Cuando se utilizan los programas BLAST y Gapped BLAST, pueden utilizarse los parámetros predeterminados de los programas respectivos (por ejemplo, XBLAST y BLAST).

En algunas modalidades, el compuesto comprende un VH1, VL1, VH2 y/o VL2 que comprende una secuencia que comprende una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más) mutaciones en una secuencia descrita en la Tabla 1. Dichas mutaciones pueden ser sustituciones conservadoras de aminoácidos. Tal como se usa en la presente, una "sustitución conservadora de

aminoácidos" se refiere a una sustitución de aminoácidos que no altera las características de tamaño o carga relativa de la proteína en la que se realiza la sustitución de aminoácidos. Las sustituciones conservadoras de aminoácidos incluyen, por ejemplo, sustituciones realizadas entre los aminoácidos dentro de los siguientes grupos: (a) M, I, L, V; (b) F, Y, W; (c) K, R, H; (d) A, G; (e) S, T; (f) Q, N; y (g) E, D.

Las secuencias de aminoácidos de la región bisagra, CH2 y CH3 del compuesto (y opcionalmente de CH1 y CL, si el compuesto contiene dichas regiones) pueden obtenerse a partir de cualquier fuente adecuada, por ejemplo, una región constante de un anticuerpo tal como IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. Las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de cadena pesada y ligera de los anticuerpos se conocen en la técnica, por ejemplo, las que se proporcionan en la base de datos de IMGT (www.imgt.org) o en www.vbase2.org/vbstat.php., las cuales se incorporan a la presente mediante referencia. Adicionalmente, en algunos sistemas de expresión, el residuo de lisina del extremo C del dominio CH3 puede retirarse de forma postransduccional. Por consiguiente, el residuo de lisina del extremo C del dominio CH3 es un residuo de aminoácidos opcional. Se proporcionan específicamente mediante la presente invención moléculas que no tienen el residuo de lisina de

extremo C del dominio CH3. También se encuentran comprendidas específicamente por la presente invención dichas construcciones que comprenden el residuo de lisina de extremo C del dominio CH3. En algunas modalidades, las secuencias de aminoácidos de CH2 y CH3 se obtienen a partir de una IgG1 (por ejemplo, SEQ ID NO:75) o IgG4 (por ejemplo, la SEQ ID NO:73). En algunas modalidades la CL comprende la secuencia de aminoácidos de una CL kappa o CL lambda. En algunas modalidades, la región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76). La región bisagra de la SEQ ID NO:76 se encuentra en, por ejemplo, el polipéptido de la SEQ ID NO:5. En otras modalidades, la región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130). La región bisagra de la SEQ ID NO:130 se encuentra en, por ejemplo, el polipéptido de la SEQ ID NO:9. La región bisagra de la SEQ ID NO:130 también se encuentra en el comienzo del dominio Fc de la SEQ ID NO:129. En aun otras modalidades, la región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134). La región bisagra de la SEQ ID NO:134 se encuentra en, por ejemplo, el polipéptido de la SEQ ID NO:13. La región bisagra de la SEQ ID NO:134 también se encuentra en el comienzo del dominio Fc de la SEQ ID NO:127.

En algunas modalidades, la CH2 y/o la CH3 del compuesto (y

opcionalmente de CH1 y CL, si el compuesto contiene dichas regiones) pueden comprender una o más sustituciones de aminoácidos que difieren de una CH2 o CH3 de tipo salvaje, por ejemplo, una o más sustituciones de aminoácidos en una CH2 o CH3 de IgG1 de tipo salvaje o una o más sustituciones de aminoácidos en una CH2 o CH3 de IgG4 de tipo salvaje (la SEQ ID NO: 39 proporciona una IgG1 de tipo salvaje de ejemplo). Dichas sustituciones son conocidas en la técnica (ver, por ejemplo, US7704497, US7083784, US6821505, US8323962, US6737056 y US7416727).

En algunas modalidades, la CH2 comprende una sustitución de aminoácidos en 234, 235, 252, 254, y/o 256, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat para un anticuerpo convencional (Kabat et ál. Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Health and Human Services, 1991, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia). Se entenderá que todas las posiciones de aminoácidos descritas en la presente se refieren a la numeración del índice EU de Kabat para un anticuerpo convencional. En algunas modalidades, la CH2 comprende una sustitución de aminoácidos en la posición 252, 254 y/o 256. En algunas modalidades, el aminoácido en la posición 252 es tirosina, fenilalanina, serina, triptófano o treonina. En

algunas modalidades, el aminoácido en la posición 254 es treonina. En algunas modalidades, el aminoácido en la posición 254 es serina, arginina, glutamina, ácido glutámico o ácido aspártico. En algunas modalidades, la CH2 comprende una
5 tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y un ácido glutámico en la posición 256 (al que se hace referencia en la presente como un mutante YTE). En algunas modalidades, la CH2 comprende una sustitución de aminoácidos en la posición 234 y/o 235. En algunas modalidades, la CH2 comprende una
10 alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235, a la que también se hace referencia en la presente como un mutante KO. En algunas modalidades, la CH2 comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254, un ácido glutámico en la posición 256, una alanina en la posición 234 y
15 una alanina en la posición 235, al que se hace referencia en la presente como un mutante KO-YTE.

En algunas modalidades, pueden utilizarse uno o más enlazadores para conectar dominios/regiones entre sí en el primer y/o el
20 segundo polipéptido. Por ejemplo, el primer polipéptido puede comprender un enlazador entre el VL1 y VH2. El primer polipéptido comprende adicionalmente un enlazador entre el VL1 o VH2 (dependiendo de la configuración como se describe anteriormente) y el bisagra (por ejemplo, -VL1-enlazador-

bisagra o -VH2-enlazador-bisagra). Si el primer polipéptido comprende una CH1, por ejemplo, el primer polipéptido puede comprender un enlazador entre el VL1 o VH2 (dependiendo de la configuración descrita anteriormente) y la CH1 (por ejemplo, VL1-enlazador-CH1 o VH2-enlazador-CH1). En otro ejemplo, el segundo polipéptido puede comprender un enlazador entre el VL2 y VH1. El segundo polipéptido puede comprender además un enlazador luego del VL2 o VH1 (dependiendo de la configuración tratada anteriormente, por ejemplo, -VL2-enlazador o -VH1-enlazador) en el extremo C de la cadena de polipéptidos. Si el segundo polipéptido comprende además una CL, el segundo polipéptido puede comprender además un enlazador entre el VL2 o VH1 (dependiendo de la configuración como se trató anteriormente) y la CL (como en, por ejemplo, VL2-enlazador-CL o VH1-enlazador-CL). Se entenderá que puede utilizarse cualquier cantidad de enlazadores para conectar cualquier dominio o región a cualquier otro dominio o región en el primer polipéptido y/o que puede utilizarse cualquier cantidad de enlazadores para conectar cualquier dominio o región a cualquier otro dominio o región en el segundo polipéptido.

Se contempla cualquier enlazador conocido en la técnica para su uso en la presente. En algunas modalidades, el enlazador es un enlazador peptídico. En algunas modalidades, el enlazador

peptídico comprende al menos dos aminoácidos, por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos. En algunas modalidades, un enlazador peptídico tiene una longitud no mayor que 50, 40, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, o 2 aminoácidos. En algunas modalidades, un enlazador peptídico tiene una longitud entre 2 y 50, 2 y 40, 2 y 30, 2 y 20, 2 y 10, 2 y 9, 2 y 8, 2 y 7, o 2 y 6 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador peptídico comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69), LGGGSG (SEQ ID NO:70), FNRGEC (SEQ ID NO:71), VEPKSC (SEQ ID NO:72), GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82), GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83) o una combinación de estas. En algunas modalidades, el enlazador peptídico puede comprender múltiples copias de una secuencia enlazadora, por ejemplo, múltiples copias de la secuencia GGGSGGGG (SEQ ID NO:69), LGGGSG (SEQ ID NO:70), FNRGEC (SEQ ID NO:71), VEPKSC (SEQ ID NO:72) o una combinación de estas.

En algunas modalidades, el primer y el segundo polipéptido tienen las siguientes configuraciones:

Primer polipéptido, configuración 1: N-VL1-VH2-bisagra-CH2-CH3-C,

Primer polipéptido, configuración 2: N-VH2-VL1-bisagra-CH2-CH3-C,

Configuración 1 del segundo polipéptido: N-VL2-VH1-C,

5

Configuración 2 del segundo polipéptido: N-VH1-VL2-C,

donde el primer enlazador entre el VL1 y VH2 del primer polipéptido o el segundo enlazador entre VL2 y VH1 del segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, el primer polipéptido comprende además un tercer enlazador entre el VH2 o VL2 y la región bisagra, y el segundo polipéptido comprende además un cuarto enlazador luego de dicho VH1 o VL2 (en su extremo C). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) y dicho cuarto enlazador de dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En otras modalidades, dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83)

y dicho cuarto enlazador de dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador de dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) o la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En otras modalidades, dicho cuarto enlazador de dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) o la secuencia de aminoácidos GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador comprende la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72) o la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71). En algunas modalidades, dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71) o la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador comprende la secuencia de aminoácidos VEPKSC (SEQ ID NO:72) y dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71). La secuencia de aminoácidos FNRGEC (SEQ ID NO:71) es los últimos seis residuos de aminoácidos del dominio CL (SEQ ID NO:77) y el aminoácido VEPKSC (SEQ ID NO: 72) incluye el último aminoácido del CH1 y los primeros cinco residuos de aminoácido de la región bisagra

de SEQ ID NO:76 (como en la SEQ ID NO:5).

En algunas modalidades, el primer y el segundo polipéptido tienen las siguientes configuraciones:

5 Primer polipéptido, configuración 3: N-VL1-VH2-CH1-bisagra-CH2-CH3-C,

Primer polipéptido, configuración 4: N-VH2-VL1-CH1-bisagra-CH2-CH3-C,

10

Configuración 3 del segundo polipéptido: N-VL2-VH1-CL-C,

Configuración 4 del segundo polipéptido: N-VH1-VL2-CL-C,

15 donde el primer enlazador entre dicho VL1 y VH2 del primer polipéptido o dicho segundo enlazador entre dicho VL2 y dicho VH1 del segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la
20 secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer polipéptido comprende además un tercer enlazador entre dicho VH2 o dicho VL1 y dicha CH1, y dicho segundo polipéptido comprende además un cuarto enlazador entre dicho VH1 o dicho VL2 y dicha CL. En algunas modalidades,

dicho tercer enlazador o dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70).

5 En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprende un residuo de cisteína opcional. En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGCGGG (SEQ ID NO:135) o LGGCGGGS (SEQ ID NO:136).

10

En algunas modalidades, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat para un anticuerpo convencional.

15

En algunas modalidades, el compuesto comprende dos del primer polipéptido y dos del segundo polipéptido. En algunas modalidades, la CH2 y la CH3 de uno de los primeros polipéptidos se asocia a la, bisagra, CH2 o CH3 del otro de los primeros
20 polipéptidos para formar una molécula tetravalente (por ejemplo, los dos del primer polipéptido se dimerizan a través de asociaciones entre sus dominios de CH2 y CH3 de bisagra respectivos para formar una molécula tetravalente que comprende dos sitios de unión específicos para la primera proteína

objetivo y dos sitios de unión específicos para la segunda proteína objetivo), un monómero o un anticuerpo monomérico como se describe en la sección de Ejemplos. Si el primer polipéptido comprende además un dominio CH1 y el segundo polipéptido comprende además un dominio CL, los dominios CH1 y CL también pueden participar en la formación de una molécula tetravalente (por ejemplo, los dos primeros polipéptidos se dimerizan a través de asociaciones entre sus dominios de bisagra, CH2 y CH3 respectivos y el CH1 de cada uno de dichos primeros polipéptidos se asocia con el CL de uno de dichos segundos polipéptidos para formar una molécula tetravalente que comprende dos sitios de unión para la primera proteína objetivo y dos sitios de unión para la segunda proteína objetivo) un monómero, un anticuerpo monomérico como se describe en la sección de Ejemplos. En algunas modalidades, los dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro. En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, donde cada uno de dicho primer polipéptido comprende un tercer enlazador, una bisagra, una CH2 y una CH3 y cada uno de dicho segundo polipéptido comprende un cuarto enlazador y donde la bisagra, la CH2 y la CH3 de uno del primer polipéptido se asocia a la bisagra, la CH2 y la CH3 del otro del primer polipéptido y el tercer enlazador de cada primer

polipéptido se asocia al cuarto enlazador de uno de dicho segundo polipéptido para formar una molécula tetraivalente (por ejemplo, un monómero, un anticuerpo monomérico como se describe en la sección de Ejemplos) (por ejemplo, compuestos U y T).

5

En algunas modalidades, la descripción se relaciona con un compuesto que comprende dos del primer polipéptido y dos del segundo polipéptido;

10 donde dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro y donde cada uno de dicho primer polipéptido se asocia a uno de dicho segundo polipéptido mediante al menos un enlace disulfuro;

15 donde cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína objetivo;

20

(ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína objetivo;

(iii) una región constante de cadena pesada 1 (CH1), una región bisagra, una región constante de cadena pesada 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y

5 donde cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína objetivo;

10

(ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína objetivo;

15 (iii) un dominio de región constante de cadena ligera (CL);

donde la bisagra, la CH2 y la CH3 de uno de los primeros polipéptidos se asocia con la bisagra, CH2 y CH3 del otro de los primeros polipéptidos y la CH1 de cada uno de dichos
20 primeros polipéptidos se asocia con el CL de dichos segundos polipéptidos para formar una molécula tetravalente;

donde

a) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha primera proteína objetivo;

b) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión
5 que se une a dicha segunda proteína objetivo;

c) dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y ácido glutámico en la posición 256, numeradas de acuerdo
10 con el índice EU de Kabat; y

d) dicha primera proteína objetivo es BAFF y dicha segunda proteína objetivo es IL-23A o dicha primera proteína objetivo es IL-23A y dicha segunda proteína objetivo BAFF,

15

y donde:

(i) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:2, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:1, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2
20 comprende la SEQ ID NO:3; o

(ii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:2 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:1; o

(iii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:85, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:84, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:4; o

5 (iv) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:85 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:84; o

(v) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:87, dicho VH1 comprende
10 la SEQ ID NO:86, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

(vi) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:87 y dicho
15 VH2 comprende la SEQ ID NO:86; o

(vii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:89, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:88, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

20

(viii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:89 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:88; o

(ix) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:91, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:90, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3; o

- 5 (x) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:91 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:90.

En algunas modalidades que se relacionan con el aspecto
10 anterior, cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende además un primer enlazador entre dicho VL1 y dicho VH2 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende además un segundo enlazador entre dicho VL2 y dicho VH1. En algunas modalidades, dicho primer enlazador o dicho segundo enlazador comprende la
15 secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). En algunas modalidades, cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende además un tercer enlazador entre dicho
20 VH2 o dicho VL1 y dicha CH1, y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende además un cuarto enlazador entre dicho VH1 o dicho VL2 y dicha CL. En algunas modalidades, dicho tercer enlazador o dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70). En algunas

modalidades, dicho tercer enlazador y dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprende un residuo de cisteína opcional. En algunas

5 modalidades, dicho tercer enlazador y/o dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGCGGG (SEQ ID NO:135) o LGGCGGGS (SEQ ID NO:136). En algunas modalidades, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235, numeradas

10 de acuerdo con el índice EU de Kabat. En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de dicha región bisagra, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) o dicha región constante de cadena pesada 3 (CH3) se obtiene a partir de IgG1 o de IgG4. En algunas modalidades, dicha región bisagra

15 comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76), la secuencia de aminoácidos LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130) o la secuencia de aminoácidos ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134). En algunas modalidades, (i) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de

20 SEQ ID NO:5 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o

(ii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y cada uno de dichos

segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:8; o

(iii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:14; o

(iv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:15 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:16; o

(v) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:22; o

(vi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
20 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:26; o

(vii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; o

5 (viii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

10 (ix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38; o

15 (x) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

20 (xi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

(xii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

5

(xiii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

10

(xiv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

15

(xv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

20

(xvi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

(xvii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

5

(xviii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

10

(xix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

15

(xx) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

20

Otros aspectos de la descripción se relacionan con un compuesto que comprende dos del primer polipéptido y dos del segundo polipéptido; donde dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro y donde cada

uno de dichos primeros polipéptidos se asocia a uno de dichos segundos polipéptidos mediante al menos un enlace de disulfuro; y donde (i) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o

(ii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; o

(iii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14; o

(iv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:15 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:16; o

(v) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 y cada uno de dichos

segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:22; o

(vi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
5 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:26; o

(vii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:30; o

(viii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:34; o

(ix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la
20 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37 y cada uno de dichos
segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de
SEQ ID NO:38; o

(x) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

5 (xi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

10 (xii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

15 (xiii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

20 (xiv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

(xv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

5

(xvi) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

10

(xvii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

15

(xviii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

20

(xix) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

(xx) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

5

En la presente también se contemplan otros compuestos que compiten para unirse a un compuesto tal como se describe en la presente, por ejemplo, un compuesto de prueba que compite con un compuesto tal como se describe en la presente para unirse a

10 BAFF e IL23A. En algunas modalidades, el compuesto de prueba puede tener al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia (aminoácido por aminoácido en la longitud total de la secuencia) con un compuesto tal como se describe en la presente. La unión competitiva puede

15 determinarse mediante el uso de cualquier ensayo conocido en la técnica, por ejemplo, unión de equilibrio, ELISA, resonancia de plasmones superficiales o espectroscopía.

En algunas modalidades, el compuesto descrito en la presente

20 se une específicamente a BAFF e IL23A. Un compuesto que se "une específicamente" a un antígeno o un epítipo es una expresión conocida en la técnica, y los métodos para determinar dicha unión específica también son conocidos en la técnica. Se dice que una molécula presenta "unión específica" si esta reacciona

o se asocia más frecuentemente, más rápidamente, con mayor duración y/o con mayor afinidad a un antígeno objetivo particular que con objetivos alternativos. Un compuesto se "une específicamente" a un epítipo o antígeno objetivo si se une con mayor afinidad, avidez, más fácilmente y/o con mayor duración con respecto a su unión a otras sustancias. Por ejemplo, un compuesto que se une específicamente (o preferentemente) a un antígeno (por ejemplo, BAFF o IL23A), o un epítipo antigénico en este, es un compuesto que se une a este antígeno objetivo con mayor afinidad, avidez, más fácilmente y/o con mayor duración con respecto a su unión a otros antígenos u otros epítopos en el mismo antígeno. También se entiende luego de leer esta definición que, por ejemplo, un compuesto que se une específicamente a un primer antígeno objetivo puede o no unirse específicamente o preferentemente a un segundo antígeno objetivo. Por lo tanto, la "unión específica" o "unión preferencial" no requieren necesariamente una unión exclusiva (aunque la pueden incluir). Generalmente, aunque no necesariamente, las referencias a la unión serán referencias a la unión preferencial. En algunos ejemplos, un compuesto que se "une específicamente" a un antígeno objetivo o un epítipo de este puede no unirse a otros antígenos u otros epítopos en el mismo antígeno.

En algunas modalidades, un compuesto tal como se describe en la presente tiene una afinidad de unión adecuada para BAFF e IL23 o los epítomos antigénicos de estos. Tal como se usa en la presente, "afinidad de unión" se refiere a la constante de asociación aparente o K_A . La K_A es la recíproca de la constante de disociación (K_D). El compuesto descrito en la presente puede tener una afinidad de unión (K_D) de al menos 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} M o menor para uno o ambos de los antígenos objetivo o los epítomos antigénicos. Un aumento en la afinidad de unión corresponde a una K_D disminuida. En algunas modalidades, el compuesto descrito en la presente tiene una afinidad de unión (K_D) de al menos 10^{-11} M o menor para uno o ambos de los antígenos objetivo o los epítomos antigénicos. Una afinidad de unión mayor de un compuesto para un primer antígeno y un segundo antígeno en relación con un tercer antígeno puede indicarse mediante una K_A mayor (o un valor numérico menor de K_D) para la unión del primer antígeno y el segundo antígeno que la K_A (o valor numérico de K_D) para la unión del tercer antígeno. En dichos casos, el compuesto tiene especificidad para el primer antígeno y el segundo antígeno (por ejemplo, una primera proteína en una primera conformación o un mimético de esta y una segunda proteína en una primera conformación o un mimético de esta) en relación con el tercer antígeno (por ejemplo, la misma primera o segunda proteína en

una segunda conformación o un mimético de esta; o una tercera proteína). Las diferencias en la afinidad de unión (por ejemplo, con respecto a la especificidad u otras comparaciones) pueden ser de al menos 1.5, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 37.5, 50, 70, 80, 91, 100, 500, 1000, 10 000 o 10^5 veces.

La afinidad de unión (o especificidad de unión) puede determinarse mediante una variedad de métodos que incluyen unión de equilibrio, ELISA, resonancia de plasmones superficiales o espectroscopía (por ejemplo, mediante el uso de un ensayo de fluorescencia). Las condiciones de ejemplo para la evaluación de la afinidad de unión se encuentran en un amortiguador de HBS-P (HEPES 10 mM pH 7.4, NaCl 150 mM, tensioactivo P20 al 0.005 % (v/v)). Estas técnicas pueden utilizarse para medir la concentración de la proteína de unión unida en función de la concentración de la proteína objetivo. La concentración de la proteína de unión unida ([Unida]) está relacionada con la concentración de la proteína objetivo libre ([Libre]) y la concentración de los sitios de unión para la proteína de unión en el objetivo donde (N) es la cantidad de sitios de unión por molécula objetivo mediante la siguiente ecuación:

$$[\text{Unida}] = [N][\text{Libre}] / (K_d + [\text{Libre}])$$

Sin embargo, no siempre es necesario realizar una determinación exacta de la K_A , aunque, ya que algunas veces es suficiente obtener una medición cuantitativa de la afinidad, por ejemplo, 5 determinada mediante el uso de un método tal como un análisis ELISA o FACS, es proporcional a K_A , y, por lo tanto, puede utilizarse para las comparaciones, tal como mediante la determinación de si una mayor afinidad es, por ejemplo, 2 veces mayor, obtener una medición cualitativa de la afinidad, u 10 obtener una inferencia de la afinidad, por ejemplo, mediante la actividad en un ensayo funcional, por ejemplo, en un ensayo in vitro o in vivo.

En algunas modalidades, el compuesto comprende un primer 15 polipéptido y un segundo polipéptido tal como se define en la Tabla 2A. En algunas modalidades, el compuesto comprende:

(i) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y dicho segundo polipéptido 20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o

(ii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; o

(iii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; o

5

(iv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; o

10 (v) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14; o

15 (vi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:15 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:16; o

(vii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17 y dicho segundo polipéptido
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; o

(viii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20; o

(ix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22; o

5 (x) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24; o

(xi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
10 aminoácidos de SEQ ID NO:25 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26; o

(xii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27 y dicho segundo polipéptido
15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28; o

(xiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; o

20 (xiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; o

(xv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:33 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

(xvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y dicho segundo polipéptido
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; o

(xvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38; o

(xviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; o
15

(xix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

(xx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43 y dicho segundo polipéptido
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44; o

(xxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:45 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

(xxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:47 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o

(xxiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:49 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

(xxiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:51 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; o

15

(xxv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:53 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

20 (xxvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:55 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

(xxvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:57 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

(xxviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:59 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

(xxix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:61 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

(xxx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:63 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

15

(xxxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:65 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

20 (xxxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:67 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

Métodos de producción de compuestos, ácidos nucleicos, vectores
y células

Los aspectos de la descripción también incluyen ácidos
5 nucleicos que codifican los compuestos descritos en la presente
o los polipéptidos descritos en la presente (por ejemplo el
primer o segundo polipéptido descritos en la presente), que
pueden codificarse juntos o separados. Pueden obtenerse los
polinucleótidos que codifican los compuestos descritos en la
10 presente o los polipéptidos descritos en la presente, y
determinarse la secuencia de nucleótidos de los
polinucleótidos, mediante cualquier método conocido en la
técnica.

15 En algunas modalidades, el ácido nucleico está comprendido
dentro de un vector, tal como un vector de expresión. En algunas
modalidades, el vector comprende un promotor enlazado de forma
operativa al ácido nucleico.

20 Puede utilizarse una variedad de promotores para la expresión
de los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos
descritos en la presente que incluyen, de modo no taxativo,
promotor temprano intermedio de citomegalovirus (CMV), una LTR
viral tal como la LTR del virus del sarcoma de Rous, HIV-LTR,

HTLV-1 LTR, el promotor temprano del virus del simio 40 (SV40), el promotor lac UV5 de *E. coli*, y el promotor del virus tk de herpes simple.

5 También pueden utilizarse promotores regulables. Dichos promotores regulables incluyen los que utilizan el represor de lac de *E. coli* como modulador de la transcripción para regular la transcripción de los promotores de células de mamífero que presentan el operador lac [Brown, M. et ál., *Cell*, 49:603-612
10 (1987)], los que utilizan el represor de la tetraciclina (tetR) [Gossen, M., y Bujard, H., *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA* 89:5547-5551 (1992); Yao, F. et ál., *Human Gene Therapy*, 9:1939-1950 (1998); Shockelt, P., et ál., *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, 92:6522-6526 (1995)]. Otros sistemas incluyen el dímero FK506,
15 VP16 o p65 y el uso de astradiol, RU486, murislerona de difenol, o rapamicina. Los sistemas inducibles se encuentran disponibles en Invitrogen, Clontech y Ariad.

Pueden utilizarse promotores regulables que incluyen un
20 represor con el operón. En una modalidad, el represor de lac de *Escherichia coli* puede funcionar como un modulador de la transcripción para regular la transcripción de los promotores de células de mamífero que presentan el operador lac [M. Brown et ál., *Cell*, 49:603-612 (1987)]; Gossen y Bujard (1992); [M.

Gossen et ál., Nati. Acad. Sci. EUA, 89:5547-5551 (1992)],
combinar el represor de tetraciclina (tetR) con el activador
de la transcripción (VP 16) para crear una proteína de fusión
de tetR-activador de la transcripción en células de mamíferos,
5 tTa (tetR-VP 16), con el promotor mínimo que presenta tetO
obtenido a partir del promotor temprano inmediato mayor del
citomegalovirus humano (hCMV) para crear un sistema de
operadores tetR-tet para controlar la expresión génica en
células de mamífero. En una modalidad, se utiliza un cambio
10 inducible con tetraciclina (Yao et ál., Human Gene Therapy;
Gossen et ál., Nati. Acad. Sci. EUA, 89:5547-5551 (1992);
Shockett et ál., Proc. Natl. Acad. Sci. EUA, 92:6522-6526
(1995)).

15 Además, el vector puede contener, por ejemplo, alguno o todos
de los siguientes: un gen marcador seleccionable, tal como el
gen de neomicina para la selección de transfectantes estables
o transitorios en células de mamífero; secuencias
potenciadoras/promotoras del gen temprano inmediato de CMV
20 humano para niveles de transcripción altos; señales de
procesamiento de ARN y terminación de la transcripción de SV40
para la estabilidad del ARNm; orígenes la replicación del
polioma de SV40 y ColE1 para la replicación episomal adecuada;
sitios de unión internos del ribosoma (IRES), sitios de

clonación múltiples versátiles; promotores del ARN T7 y SP6 para la transcripción in vitro de ARN sentido y antisentido. Los vectores y los métodos adecuados para producir vectores son conocidos y se encuentran disponibles en la técnica.

5

Puede transferirse un vector de expresión que comprende el ácido nucleico a una célula hospedadora mediante técnicas convencionales (por ejemplo, electroporación, transfección liposómica y precipitación de calcio y fosfato) y, luego, las
10 células transfectadas se cultivan mediante técnicas convencionales para producir los compuestos descritos en la presente. En algunas modalidades, se regula la expresión de los compuestos descritos en la presente mediante un promotor constitutivo, inducible o específico del tejido.

15

Las células hospedadoras utilizadas para expresar los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente pueden ser células bacterianas tales como *Escherichia coli*, o, preferentemente, células eucariotas.
20 En particular, las células de mamífero tales como las células de ovario de hámster chino (CHO), junto con un vector tal como el elemento de promotor génico temprano intermedio mayor del citomegalovirus humano forman un sistema de expresión eficaz para las inmunoglobulinas (Foecking et ál., (1986) "Powerful

And Versatile Enhancer-Promoter Unit For Mammalian Expression Vectors," Gene 45:101-106; Cockett et ál. (1990) "High Level Expression Of Tissue Inhibitor Of Metalloproteinases In Chinese Hámster Ovary Cells Using Glutamine Synthetase Gene Amplification," Biotechnology 8:662-667).

También puede utilizarse una variedad de sistemas de vectores de expresión del hospedador para expresar los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente. Dichos sistemas de expresión de hospedador representan vehículos mediante los cuales pueden producirse y, posteriormente, purificarse las secuencias de codificación de los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente, pero también representan células que pueden expresar los compuestos descritos en la presente in situ, cuando se las transforma o transfecta con las secuencias de codificación de nucleótidos adecuadas. Estos incluyen, de modo no taxativo, microorganismos tales como bacteria (por ejemplo, E. coli y B. subtilis) transformados con vectores de expresión de ADN de bacteriofagos recombinante, ADN de plásmido o ADN de cósmido que contienen secuencias de codificación para los compuestos descritos en la presente; levadura (por ejemplo, Saccharomyces pichia) transformada con vectores de expresión de levadura recombinantes que contienen secuencias que

codifican los compuestos descritos en la presente; sistemas de células de insectos infectadas con vectores de expresión de virus recombinantes (por ejemplo, baclovirus) que contienen las secuencias que codifican los compuestos descritos en la presente; sistemas de células vegetales infectadas con vectores de expresión recombinantes de virus (por ejemplo, virus del mosaico de la coliflor (CaMV) y virus del mosaico del tabaco (TMV) o transformadas con vectores de expresión de plásmido recombinantes (por ejemplo, plásmido Ti) que contienen las secuencias que codifican las moléculas y los compuestos descritos en la presente; o sistemas de células de mamífero (por ejemplo, células COS, CHO, BHK, 293, 293T, 3T3, células linfáticas (ver, la patente estadounidense n.º 5,807,715), células Per C.6 (células retinianas humanas desarrolladas por Crucell) que albergan construcciones de expresión recombinantes que contienen los promotores obtenidos a partir del genoma de células de mamífero (por ejemplo, promotor de metalotioneína) o a partir de virus de mamífero (por ejemplo, el promotor tardío del adenovirus; el promotor 7.5K del virus vacuna).

En los sistemas bacterianos, puede seleccionarse una cantidad de vectores de expresión de manera favorable dependiendo del uso previsto del compuesto que se expresa. Por ejemplo, cuando

se debe producir una gran cantidad de dicha proteína, para la generación de composiciones farmacéuticas de los compuestos descritos en la presente, pueden ser convenientes los vectores que dirigen la expresión de altos niveles de productos de
5 proteína de fusión que pueden purificarse fácilmente. Dichos vectores incluyen, de modo no taxativo, el vector de expresión pUR278 de *E. coli*. (Rüther et ál. (1983) "Easy Identification Of cDNA Clones," EMBO J. 2:1791-1794), en el cual la secuencia de codificación de anticuerpo puede estar ligada de manera
10 individual en el vector, en el mismo marco de lectura que la región de codificación de lac Z, de modo tal que se produzca una proteína de fusión; vectores pIN (Inouye et ál. (1985) "Up-Promoter Mutations In The lpp Gene Of Escherichia Coli," Nucleic Acids Res. 13:3101-3110; Van Heeke et ál. (1989)
15 "Expression Of Human Asparagine Synthetase In Escherichia Coli," J. Biol. Chem. 24:5503-5509); y similares. También pueden utilizarse vectores pGEX para expresar polipéptidos extraños como proteínas de fusión con glutatión S-transferasa (GST). En general, dichas proteínas de fusión son solubles y
20 pueden purificarse fácilmente a partir de células lisadas mediante adsorción y unión a una matriz de perlas de glutatión-agarosa, seguida de elución en presencia de glutatión libre. Los vectores pGEX se diseñan para incluir trombina o sitios de escisión de proteasa de factor Xa de forma tal que el producto

del gen objetivo clonado pueda liberarse del resto GST.

En un sistema de insectos, el virus de polihedrosis nuclear Autographa californica (AcNPV) se usa como un vector para
5 expresar genes extraños. El virus crece en células Spodoptera frugiperda. La secuencia de codificación puede clonarse de manera individual en regiones no esenciales (por ejemplo, el gen de polihedrina) del virus y colocarse bajo el control de un promotor de AcNPV (por ejemplo, el promotor de polihedrina).
10 En células hospedadoras de mamífero, puede utilizarse una cantidad de sistemas de expresión basados en virus. En los casos en los que se utiliza un adenovirus como vector de expresión, la secuencia de codificación de interés puede estar ligada a un complejo de control de la transcripción/traducción
15 del adenovirus, por ejemplo, el promotor tardío y la secuencia líder tripartita. Este gen quimérico se puede insertar luego en el genoma de adenovirus mediante recombinación *in vitro* o *in vivo*. La inserción en una región no esencial del genoma viral (por ejemplo, la región E1 o E3) producirá un virus
20 recombinante viable y capaz de expresar la molécula de la inmunoglobulina en hospedadores infectados (por ejemplo, ver Logan et ál. (1984) "Adenovirus Tripartite Leader Sequence Enhances Translation Of mRNAs Late After Infection," Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 81:3655-3659). También pueden necesitarse

señales de inicio específicas para la traducción eficaz de secuencias de codificación de anticuerpos insertadas. Estas señales incluyen el codón de inicio ATG y secuencias adyacentes. Además, el codón de inicio debe estar en la misma fase que el marco de lectura de la secuencia de codificación deseada para asegurar la traducción de toda la inserción. Estos codones de inicio y señales de control de traducción exógena pueden tener diversos orígenes, tanto naturales como sintéticos. La eficacia de la expresión puede potenciarse mediante la inclusión de elementos potenciadores de la transcripción y terminadores de la transcripción apropiados, etc. (véase, Bitter et ál., (1987) "Expression And Secretion Vectors For Yeast," Methods in Enzymol. 153:516-544).

Además, se puede elegir una cepa de célula hospedadora que modula la expresión de las secuencias insertadas o modifica y procesa el producto genético en la forma específica deseada. Tales modificaciones (por ejemplo, glicosilación) y procesamiento (por ejemplo, escisión) de productos de proteína pueden ser importantes para la función de la proteína. Por ejemplo, en determinadas modalidades, los compuestos descritos en la presente pueden expresarse como un único producto génico (por ejemplo, una única cadena de polipéptidos, es decir, como un precursor de poliproteína), que requiere escisión

proteolítica mediante mecanismos celulares recombinantes o naturales para formar polipéptidos separados de los compuestos descritos en la presente. Por lo tanto, la descripción comprende la modificación genética de una secuencia de ácidos nucleicos para codificar una molécula precursora de poliproteína que comprende los polipéptidos de los compuestos descritos en la presente, que incluye secuencias de codificación capaces de dirigir la escisión postraducciona

5 del precursor de poliproteína. La escisión postraducciona del precursor de poliproteína produce los polipéptidos de los compuestos descritos en la presente. La escisión postraducciona de la molécula precursora que comprende los polipéptidos de los compuestos descritos en la presente puede producirse *in vivo* (es decir, dentro de la célula hospedadora

10 mediante sistemas/mecanismos celulares recombinantes o naturales, por ejemplo, escisión de furina en un sitio adecuado) o puede producirse *in vitro* (por ejemplo incubación de dicha cadena de polipéptidos en una composición que comprende proteasas o peptidasas de actividad conocida y/o en

15 una composición que comprende condiciones o reactivos conocidos para promover la acción proteolítica deseada). En la técnica se conocen la purificación y la modificación de las proteínas recombinantes de modo tal que el diseño del precursor de poliproteína puede incluir una cantidad de modalidades

20

fácilmente comprendidas por un experto. Puede utilizarse cualquier proteasa o peptidasa conocida en la técnica para la modificación descrita de la molécula precursora, por ejemplo, trombina o el factor Xa (Nagai et ál. (1985) "Oxygen Binding Properties Of Human Mutant Hemoglobins Synthesized In Escherichia Coli," Proc. Nat. Acad. Sci. EUA 82:7252-7255, y revisado en Jenny et ál. (2003) A« Critical Review Of The Methods For Cleavage Of Fusion Proteins With Thrombin And Factor Xa», Protein Expr. Purif. 31:1-11, cada una de las cuales se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia)), enterocinasa (Collins-Racie et ál. (1995) "Production Of Recombinant Bovine" "Enterokinase Catalytic Subunit In Escherichia Coli Using The Novel Secretory Fusion Partner DsbA", Biotechnology 13:982-987, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia)), furina y AcTEV (Parks et ál. (1994) «Release Of Proteins And Peptides From Fusion Proteins Using A Recombinant Plant Virus Proteinase», Anal. Biochem. 216:413-417, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia)) y la proteasa C3 del virus de la enfermedad de la fiebre aftosa.

Las distintas células hospedadoras tienen características y mecanismos específicos para el procesamiento y la modificación postraducción de proteínas y productos genéticos. Las líneas

celulares o los sistemas hospedadores apropiados se pueden elegir de modo de asegurar la modificación y el procesamiento correctos de la proteína extraña. Con este fin, las células hospedadoras eucarióticas que poseen la maquinaria celular para el procesamiento adecuado de la transcripción primaria, glicosilación y fosforilación del producto genético se puede usar. Dichas células hospedadoras de mamífero incluyen, de modo no taxativo, CHO, VERY, BHK, Hela, COS, MDCK, 293, 293T, 3T3, WI38, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 y T47D, CRL7030 y Hs578Bst.

10

Para la producción de alto rendimiento a largo plazo de proteínas recombinantes se prefiere la expresión estable. Por ejemplo, pueden modificarse genéticamente líneas celulares que expresan de manera estable los compuestos descritos en la presente. En vez de utilizar vectores de expresión que contengan orígenes virales de replicación, las células hospedadoras se pueden transformar con ADN controlado por elementos de control de expresión adecuados (por ejemplo, promotor, potenciador, secuencias, terminadores de la transcripción, sitios de poliadenilación, etc.) y un marcador seleccionable. Luego de la introducción del ADN extraño, puede permitirse que las células modificadas crezcan durante 1-2 días en un medio enriquecido y luego cambiarlas a un medio selectivo. El marcador seleccionable en el plásmido

15
20

recombinante otorga resistencia a la selección y permite que las células integren de forma estable el plásmido en sus cromosomas y crezcan para formar focos que a su vez se pueden clonar y expandir en líneas celulares. Este método puede usarse
5 de manera favorable para modificar genéticamente las líneas celulares que expresan los compuestos descritos en la presente. Dichas líneas celulares modificadas pueden ser particularmente útiles en la detección y la evaluación de compuestos que interactúan directa o indirectamente con los compuestos
10 descritos en la presente.

Puede utilizarse una cantidad de sistemas de selección que incluyen, de modo no taxativo, la timidina cinasa del virus del herpes simple (Wigler et ál. (1977) «Transfer Of Purified
15 Herpes Virus Thymidine Kinase Gene To Cultured Mouse Cells», Cell 11: 223-232), hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (Szybalska et ál. (1992) "Use Of The HPRT Gene And The HAT Selection Technique In DNA-Mediated Transformation Of Mammalian Cells First Steps Toward Developing
20 Hybridoma Techniques And Gene Therapy", Bioessays 14: 495-500), y genes de adenina fosforribosiltransferasa (Lowy et ál. (1980) "Isolation Of Transforming DNA: Cloning The Hamster aprt Gene", Cell 22: 817-823), dichos genes pueden utilizarse en células tk-, hgprt- o aprt-, respectivamente. Además, puede utilizarse

la resistencia anti-metabolito como criterio de selección de los siguientes genes: dhfr, que otorga resistencia al metotrexato (Wigler et ál., (1980) "Transformation Of Mammalian Cells With An Amplifiable Dominant-Acting Gene", Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 77:3567-3570; O'Hare et ál. (1981) "Transformation Of Mouse Fibroblasts To Methotrexate Resistance By A Recombinant Plasmid Expressing A Prokaryotic Dihydrofolate Reductase," Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 78: 1527-1531); gpt, que otorga resistencia al ácido micofenólico (Mulligan et ál. (1981) "Selection For Animal Cells That Express The Escherichia coli Gene Coding For Xanthine-Guanine Phosphoribosyltransferase", Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 78: 2072-2076); neo, que otorga resistencia al aminoglicósido G-418 (Tolstoshev (1993) "Gene Therapy, Concepts, Current Triáis And Future Directions", Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596; Mulligan (1993) "The Basic Science Of Gene Therapy", Science 260:926-932; y Morgan et ál. (1993) "Human Gene Therapy", Ann. Rev. Biochem. 62:191-217) e hygro, que otorga resistencia a la higromicina (Santerre et ál. (1984) "Expression Of Prokaryotic Genes For Hygromycin B And G418 Resistance As Dominant-Selection Markers In Mouse L Cells", Gene 30:147-156). Los métodos comúnmente conocidos en la técnica de la tecnología de ADN recombinante que se pueden usar se describen en Ausubel et ál. (eds.), 1993, Current Protocols

in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY; Kriegler, 1990, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY; y en los capítulos 12 y 13, Dracopoli et ál. (eds), 1994, Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY.; Colberre-Garapin et ál. (1981) "A New Dominant Hybrid Selective Marker For Higher Eukaryotic Cells", J. Mol. Biol. 150:1-14.

Los niveles de expresión de los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente se pueden aumentar mediante la amplificación de vectores (para acceder a una revisión, ver Bebbington y Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells en DNA Cloning, Vol. 3. Academic Press, Nueva York, 1987). Cuando un marcador en el sistema que expresa un compuesto descrito en la presente es amplificable, el aumento en el nivel del inhibidor presente en el cultivo de una célula hospedadora aumentará la cantidad de copias del gen marcador. Debido a que la región amplificable se asocia a la secuencia de nucleótidos de un compuesto descrito en la presente o un polipéptido descrito en la presente, también aumentará la producción del polipéptido (Crouse et ál. (1983) "Expression And Amplification Of Engineered Mouse Dihydrofolate Reductase Minigenes", Mol. Cell. Biol. 3:257-

266) .

La célula hospedadora puede transfectarse conjuntamente con dos vectores de expresión, de los cuales el primer vector
5 codifica el primer polipéptido de un compuesto descrito en la presente y el segundo vector codifica el segundo polipéptido de un compuesto descrito en la presente. Los dos vectores pueden contener marcadores seleccionables idénticos que permiten una expresión igual de ambos polipéptidos. De manera
10 alternativa, puede utilizarse un único vector que codifique ambos polipéptidos. Las secuencias de codificación para los polipéptidos de los compuestos descritos en la presente pueden comprender ADNc o ADN genómico.

15 Una vez que un compuesto descrito en la presente o un polipéptido descrito en la presente se haya expresado de manera recombinante, este puede purificarse mediante cualquier método conocido en la técnica para la purificación de polipéptidos, poliproteínas o anticuerpos (por ejemplo, análogos de los
20 esquemas de purificación de anticuerpos en función de la selectividad de antígenos), por ejemplo, mediante cromatografía (por ejemplo, cromatografía de intercambio de iones, mediante afinidad, particularmente, mediante afinidad para el antígeno específico (opcionalmente después de la

selección de proteína A en la que el compuesto comprende un dominio de Fe (o una parte de este)), y en columna por tamaño), centrifugación, solubilidad diferencial, o mediante cualquier otra técnica estándar para la purificación de polipéptidos o anticuerpos.

Otros aspectos de la descripción se refieren a una célula que comprende un ácido nucleico descrito en la presente o un vector descrito en la presente. La célula puede ser una célula procariota o eucariota. En algunas modalidades, la célula es una célula de mamífero. En la presente se describen tipos celulares ilustrativos.

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a un método para producir un compuesto descrito en la presente o un polipéptido descrito en la presente (por ejemplo, un primer polipéptido o un segundo polipéptido), donde el método comprende obtener una célula descrita en la presente y expresar un ácido nucleico descrito en la presente en dicha célula. En algunas modalidades, el método comprende además aislar y purificar un compuesto descrito en la presente o un polipéptido descrito en la presente.

Métodos de tratamiento y composiciones para su uso en la

medicina

Otros aspectos de la descripción se refieren a métodos de tratamiento y composiciones para su uso en la medicina. Los
5 ejemplos no taxativos de compuestos para uso en dichos métodos y composiciones son los que comprenden:

(i) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o

(ii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; o

15

(iii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; o

20 (iv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; o

(v) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:13 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14; o

(vi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:15 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:16; o

(vii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:17 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; o

(viii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:19 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20; o

15

(ix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:21 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22; o

20 (x) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:23 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24; o

(xi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:25 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26; o

(xii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27 y dicho segundo polipéptido
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28; o

(xiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; o

(xiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; o
15

(xv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

(xvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y dicho segundo polipéptido
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; o

(xvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:37 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38; o

(xviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:39 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; o

(xix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:41 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

(xx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:43 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44; o

15

(xxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:45 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

20 (xxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:47 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o

(xxiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:49 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

(xxiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51 y dicho segundo polipéptido
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; o

(xxv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

(xxvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o
15

(xxvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

(xxviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y dicho segundo polipéptido
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

(xxix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:61 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

(xxx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

(xxxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

(xxxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

15

En algunas modalidades, el método de tratamiento o el uso es un método para tratar una enfermedad autoinmuntaria o inflamatoria o su uso en dicho método. En algunas modalidades, el método comprende administrar un compuesto descrito en la presente o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto a un sujeto, por ejemplo, un sujeto que padece, o en riesgo de padecer, una enfermedad autoinmuntaria o inflamatoria.

20

El sujeto que se tratará mediante los métodos descritos en la presente puede ser un mamífero, más preferentemente, un ser humano. Los mamíferos incluyen, de modo no taxativo, animales de granja, animales para deportes, mascotas, primates, caballos, perros, gatos, ratones y ratas. Un sujeto humano que necesita el tratamiento puede ser un sujeto humano que padece, en riesgo de padecer, o del cual se sospecha que padece, una enfermedad. Un sujeto que padece una enfermedad puede identificarse mediante exámenes médicos de rutina, por ejemplo, un examen físico, una prueba de laboratorio, una prueba funcional de los órganos, una tomografía computarizada o un ultrasonido. Un sujeto del cual se sospecha que padece cualquiera de dichas enfermedades puede mostrar uno o más síntomas de la enfermedad. Los signos y los síntomas de las enfermedades, por ejemplo, enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias, son conocidos por los expertos en la técnica. Un sujeto en riesgo de padecer la enfermedad puede ser un sujeto que presenta uno o más de los factores de riesgo de esa enfermedad.

20

Los ejemplos no taxativos de enfermedades autoinmunitarias incluyen lupus nefrítico (LN) (lupus eritematoso sistémico (SLE) con compromiso renal), lupus eritematosos sistémico (SLE), síndrome de Sjogren primario (pSS), enfermedad de

Sjorgren, enfermedad de injerto contra huésped (GVHD) (por ejemplo, enfermedad de injerto contra huésped crónica (cGVHD)), esclerosis sistémica (SSc), vasculitis asociada con anticuerpo autocitoplasma de neutrófilos (ANCA) (AAV), artritis reumatoide, soriasis, diabetes tipo 1, lupus eritematoso sistémico, rechazo al trasplante, enfermedad tiroide autoinmunitaria (enfermedad de Hashimoto), sacoidosis, escleroderma, vasculitis granulomatosa, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, enfermedad de Sjogren, espondilitis anquilosante, artritis soriática, dermatomiositis, polimiositis, poliateritis nodosa, enfermedades de la piel ampollares mediadas de forma inmunológica, síndrome de Behcet, esclerosis múltiple, enfermedad de Goodpasture o glomerulonefritis mediada por inmunidad.

15

Los ejemplos no taxativos de enfermedades inflamatorias incluyen, artritis reumatoide, psoriasis, lupus sistémico eritematoso, alopecia areata, espondilitis anquilosante, síndrome antifosfolípidos, enfermedad autoinmunitaria de Addison, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, enfermedad autoinmunitaria del oído interno, síndrome linfoproliferativo inmunitario (ALPS), púrpura trombocitopénica autoinmunitaria (ATP), enfermedad de Behcet, penfigoide bulloso, cardiomiopatía, celiaquía-dermatitis,

20

síndrome de inmunodeficiencia por fatiga crónica (CFIDS),
polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica,
penfigoide cicatricial, enfermedad de las aglutininas frías,
síndrome de Crest, enfermedad de Crohn, enfermedad de Dego,
5 dermatomiasitis, dermatomiositis - juvenil, lupus discoide,
crioglobulinemia esencial mixta, fibromialgia - fibromiositis,
enfermedad de Graves, enfermedad de guillain-barre, tiroiditis
de hashimoto, fibrosis pulmonar idiopática, púrpura
trombocitopénica idiopática (ITP), nefropatía por IgA,
10 diabetes insulino dependiente (Tipo I), artritis juvenil,
enfermedad de Meniere, enfermedad del tejido conjuntivo mixta,
esclerosis múltiple, miastenia grave, pénfigo vulgar, anemia
perniciosa, poliarteritis nodosa, policondritis, síndromes
poligrlandulares, polimialgia reumática, polimiositis y
15 dermatomiositis, agammaglobulinemia primaria, cirrosis biliar
primaria, psoriasis, fenómeno de Raynaud, síndrome de Reiter,
fiebre reumática, sarcoidosis, escleroderma, síndrome de
Sjogren, síndrome de la persona rígida, arteritis de Takayasu,
arteritis temporal/arteritis de células gigantes, colitis
20 ulcerosa, uveitis, vasculitis, vitíligo y granulomatosis de
Wegener. En algunas modalidades, la enfermedad autoinmunitaria
o inflamatoria es enfermedad de Crohn, espondilitis
anquilosante o artritis psoriásica.

Para poner en práctica un método descrito en la presente, puede administrarse una cantidad eficaz de un compuesto o composición farmacéutica descrito en la presente a un sujeto (por ejemplo, un ser humano) que necesita el tratamiento. Se conocen diversos sistemas de administración y pueden utilizarse para administrar los compuestos de la invención. Los métodos de administración incluyen, de modo no taxativo, las vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. Los compuestos de la tecnología objeto pueden administrarse, por ejemplo, mediante infusión, bolo o inyección y pueden administrarse junto con otros agentes biológicamente activos tales como agentes antiinflamatorios. La administración puede ser sistémica o local. En modalidades preferidas, la administración se realiza mediante inyección subcutánea. Las formulaciones para dichas inyecciones pueden prepararse, por ejemplo, en jeringas llenas previamente que pueden administrarse una vez cada dos semanas.

Una "cantidad eficaz", tal como se usa en la presente, se refiere a la cantidad de cada compuesto necesaria para otorgar un efecto terapéutico sobre el sujeto, ya sea solo o en combinación con uno o más de otros compuestos. Las cantidades eficaces varían, tal como lo reconocerán los expertos en la técnica, dependiendo de la afección particular que se trata,

la gravedad de la afección, los parámetros del sujeto individual que incluyen, edad, condición física, talla, género, peso, la duración del tratamiento, la naturaleza de la terapia actual (si la hubiere), la vía de administración específica y factores similares dentro del conocimiento y la experiencia del profesional de la salud. Estos factores son conocidos para los expertos en la técnica y pueden abordarse únicamente mediante el uso de la experimentación habitual. Generalmente, se prefiere que se utilice una dosis máxima de los componentes individuales o combinaciones de estos, es decir, la mayor dosis segura de acuerdo con la opinión médica bien fundada. Los expertos en la técnica comprenderán, sin embargo, que un sujeto puede insistir con una dosis menor o una dosis tolerable por razones médicas, razones psicológicas o virtualmente por cualquier otra razón.

Las consideraciones empíricas, tales como la semivida, generalmente contribuirán con la determinación de la dosificación. Por ejemplo, pueden utilizarse compuestos compatibles con el sistema inmunitario humano, tales como los compuestos que comprenden regiones de anticuerpos humanizados o anticuerpos humanos completos, para prolongar la semivida del compuesto y para impedir que el compuesto sea atacado por el sistema inmunitario del hospedador. La frecuencia de

administración puede determinarse y ajustarse durante el transcurso de la terapia y, generalmente, pero no necesariamente, se basa en el tratamiento y/o la supresión y/o mejora y/o demora de una enfermedad. De manera alternativa, pueden ser apropiadas las formulaciones de liberación continua sostenida. En la técnica se conocen diversas formulaciones y dispositivos para lograr la liberación sostenida.

En algunas modalidades, la dosificación es diaria, cada dos días, cada tres días, cada cuatro días, cada cinco días o cada seis días. En algunas modalidades, la frecuencia de dosificación es todas las semanas, cada 2 semanas, cada 4 semanas, cada 5 semanas, cada 6 semanas, cada 7 semanas, cada 8 semanas, cada 9 semanas o cada 10 semanas; o una vez al mes, cada 2 meses o cada 3 meses o mayor. La evolución de esta terapia puede monitorearse fácilmente mediante ensayos y técnicas convencionales. El régimen de dosificación (que incluye el compuesto utilizado) puede variar con el transcurso del tiempo.

20

En algunas modalidades, para un sujeto adulto de peso normal, pueden administrarse dosis que oscilan de alrededor de 0.01 a 1000 mg/kg. En algunas modalidades, la dosis es de entre 1 a 200 mg. El régimen de dosificación particular, es decir, la

dosis, la sincronización y la repetición, dependerá del sujeto particular y el historial médico de dicho sujeto, así como de las propiedades del compuesto (tal como la semivida del compuesto y otras consideraciones conocidas en la técnica).

5

A los efectos de la presente descripción, la dosificación adecuada de un compuesto tal como se describe en la presente dependerá del compuesto específico empleado (o las composiciones de este), la formulación y la vía de
10 administración, el tipo y la gravedad de la enfermedad, si el compuesto se administra a efectos preventivos o terapéuticos, la terapia previa, el historial clínico del sujeto y la respuesta al antagonista, y el criterio del médico tratante. Usualmente, el médico administrará un compuesto hasta alcanzar
15 una dosificación que logre el resultado deseado. La administración de uno o más compuestos puede ser continua o intermitente, dependiendo, por ejemplo, de la condición fisiológica del receptor, de si el objetivo de la administración es terapéutico o profiláctico, y de otros
20 factores conocidos para los profesionales expertos. La administración de un compuesto puede ser esencialmente continua durante un período de tiempo preseleccionado o puede ser en una serie de dosis separadas, por ejemplo, ya sea antes, durante o después del desarrollo de una enfermedad.

Tal como se usa en la presente, el término «tratar» se refiere a la aplicación o la administración de un compuesto o una composición que incluye el compuesto a un sujeto que padece una enfermedad, un síntoma de la enfermedad o una predisposición a la enfermedad, a los efectos de curar, sanar, aliviar, mitigar, alterar, recuperar, mejorar o afectar la enfermedad, el síntoma de la enfermedad o la predisposición a la enfermedad.

Aliviar una enfermedad incluye retrasar el desarrollo o la evolución de la enfermedad o reducir la gravedad de la enfermedad. Aliviar la enfermedad no requiere necesariamente resultados curativos. Tal como usa en la presente, "retrasar" el desarrollo de una enfermedad significa diferir, dificultar, enlentecer, demorar, estabilizar y/o posponer la evolución de la enfermedad. Esta demora puede tener extensiones de tiempo variables, dependiendo del historial de la enfermedad y/o el individuo en tratamiento. Un método que "retrasa" o alivia el desarrollo de una enfermedad, o retrasa la aparición de la enfermedad, es un método que reduce la probabilidad de desarrollar uno o más síntomas de la enfermedad en un marco de tiempo dado y/o reduce la extensión de los síntomas en un marco de tiempo dado, en comparación con el no uso del método. Dichas comparaciones se basan usualmente en estudios clínicos, que

utilizan una cantidad de sujetos suficiente para proporcionar un resultado estadísticamente significativo.

"Desarrollo" o "evolución" de una enfermedad significa las manifestaciones iniciales y/o la subsiguiente evolución de la enfermedad. El desarrollo de la enfermedad puede detectarse y evaluarse mediante el uso de técnicas clínicas estándar, tal como se conoce en la técnica. Sin embargo, el desarrollo también se refiere a la evolución de que puede ser indetectable. A los efectos de la presente descripción, el desarrollo o la evolución se refieren al transcurso biológico de los síntomas. El "desarrollo" incluye la ocurrencia, recurrencia y aparición. Tal como se usa en la presente, la "aparición" o la "ocurrencia" de una enfermedad incluye la aparición inicial y/o la recurrencia.

En algunas modalidades, el compuesto descrito en la presente se administra a un sujeto que necesita el tratamiento en una cantidad suficiente para inhibir la actividad de uno o ambos de BAFF o IL23A mediante al menos 20 % (por ejemplo, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más) in vivo o in vitro. Los métodos para determinar la capacidad inhibidora de un compuesto son conocidos en la técnica. En los Ejemplos se proporcionan ensayos de inhibición de BAFF e IL23A

ilustrativos.

Pueden utilizarse métodos convencionales, conocidos por los expertos en la técnica de la medicina, para administrar el compuesto o la composición farmacéutica al sujeto, dependiendo del tipo de enfermedad que se tratará o el sitio de la enfermedad. Esta composición también puede administrarse mediante otras vías convencionales, por ejemplo, mediante administración oral, parenteral, inhalación de atomización, tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o mediante un depósito implantado. Tal como se usa en la presente, el término "parenteral" incluye técnicas de inyección o infusión subcutáneas, intracutáneas, intravenosas, intramusculares, intraarticulares, intraarteriales, intrasinoviales, intraesternales, intratecales, intralesionales e intracraneales. Además esta puede administrarse al sujeto mediante vía de administración de depósito inyectable tal como mediante el uso de métodos y materiales biodegradables o inyectables con un depósito de 1, 3 o 6 meses.

20

Composiciones farmacéuticas

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto

descrito en la presente. Puede administrarse una composición que comprende un compuesto de la tecnología sujeto (por ejemplo, compuestos específicos para BAFF e IL23A) a un sujeto que padece o se encuentra en riesgo de padecer una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria. La tecnología objeto proporciona además el uso de un compuesto de la tecnología sujeto en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria. Los compuestos pueden administrarse solos o en combinación con otras composiciones en la prevención o el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria. Los ejemplos no taxativos de los compuestos de la tecnología sujeto para su uso en dichas composiciones farmacéuticas son los que comprenden:

15

(i) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6; o

20

(ii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; o

(iii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:9 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; o

(iv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11 y dicho segundo polipéptido
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12; o

(v) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:13 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14; o

(vi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:15 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:16; o
15

(vii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:17 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18; o

(viii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19 y dicho segundo polipéptido
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20; o

(ix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:21 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22; o

(x) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:23 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24; o

(xi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:25 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26; o

(xii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:27 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28; o

15

(xiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:29 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; o

20 (xiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:31 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32; o

(xv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:33 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

(xvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y dicho segundo polipéptido
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; o

(xvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38; o

(xviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40; o
15

(xix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; o

(xx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43 y dicho segundo polipéptido
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44; o

(xxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:45 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

(xxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
5 aminoácidos de SEQ ID NO:47 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o

(xxiii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:49 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

(xxiv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:51 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52; o

15

(xxv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:53 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; o

20 (xxvi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de
aminoácidos de SEQ ID NO:55 y dicho segundo polipéptido
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

(xxvii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:57 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58; o

(xxviii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60; o

(xxix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62; o

(xxx) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64; o

(xxxi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66; o

(xxxii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:67 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68.

Tal como se usa en la presente, la expresión "composición

farmacéutica" se refiere a la formulación de un compuesto descrito en la presente en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede comprender además agentes adicionales (por ejemplo, para su administración específica, para aumentar la semivida u otros compuestos terapéuticos).

Tal como se usa en la presente, la expresión "portador farmacéuticamente aceptable", se refiere a un material, una composición o un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un relleno sólido o líquido, diluyente, excipiente, auxiliar de fabricación (por ejemplo, lubricante, magnesio en talco, estearato de cinc o calcio o ácido esteárico) material de encapsulación de solvente, implicado en el transporte o el traslado del compuesto desde un sitio del cuerpo (por ejemplo, el sitio de administración) hacia otro sitio (por ejemplo, órgano, tejido o parte del cuerpo). Un portador farmacéuticamente aceptable es "aceptable" en el sentido de que es compatible con los otros ingredientes de la formulación y de que no daña el tejido del sujeto (por ejemplo, fisiológicamente compatible, estéril, pH fisiológico, etc.). Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tal como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones,

tales como almidón de maíz y almidón de papa; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, etilcelulosa, celulosa microcristalina y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, lauril sulfato de sodio y talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras supositorias; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol (PEG); (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) ágar; (14) agentes amortiguadores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógeno; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones amortiguadoras de pH; (21) poliésteres, policarbonatos y/o polianhídridos; (22) agentes espesantes, tales como polipéptidos y aminoácidos; (23) componente en suero, tal como albúmina en suero, HDL y LDL; (22) alcoholes C2-C12, tal como etanol y (23) otras sustancias compatibles no tóxicas, como composiciones utilizadas en formulaciones farmacéuticas. En la formulación, también pueden estar presentes agentes humectantes, agentes colorantes,

agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes endulzantes, agentes saborizantes, agentes perfumantes, conservantes y antioxidantes. Las expresiones tales como "excipiente", "portador", "portador farmacéuticamente
5 aceptable" o similares se utilizan en forma indistinta en la presente.

En algunas modalidades, se administra un compuesto de la tecnología sujeto en una composición mediante inyección, por
10 medio de un catéter, por medio de un supositorio o por medio de un implante, donde el implante es de un material poroso, no poroso o gelatinoso, que incluye una membrana, tal como una membrana sikalastic, o una fibra. Típicamente, cuando se administra la composición, los materiales se utilizan
15 materiales que no absorben el compuesto de la tecnología sujeto.

En otras modalidades, los compuestos de la tecnología sujeto se administran en un sistema de liberación controlada. En una
20 modalidad, puede utilizarse una bomba (ver, por ejemplo, Langer, 1990, Science 249:1527-1533; Sefton, 1989, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201; Buchwald et ál., 1980, Surgery 88:507; Saudek et ál., 1989, N. Engl. J. Med. 321:574). En otra modalidad, pueden utilizarse materiales poliméricos. (Ver, por

ejemplo, *Medical Applications of Controlled Release* (Langer y Wise eds., CRC Press, Boca Ratón, Fla., 1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance* (Smolen y Ball eds., Wiley, Nueva York, 1984); Ranger y Peppas, 1983, 5 *Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61. Ver, también, Levy et ál., 1985, *Science* 228:190; During et ál., 1989, *Ann. Neurol.* 25:351; Howard et ál., 1989, *J. Neurosurg.* 71:105). Otros sistemas de liberación controlada se describen, por ejemplo, en Langer, *supra*.

10

Los compuestos de la tecnología sujeto pueden administrarse como composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de unión y uno o más ingredientes farmacéuticamente compatibles.

15

En modalidades típicas, la composición farmacéutica se formula de acuerdo con procedimientos de rutina como una composición farmacéutica adaptada para la administración intravenosa o subcutánea a un sujeto, por ejemplo, un ser humano. Usualmente, 20 las composiciones para administración mediante inyección son soluciones en un amortiguador acuoso isotónico estéril. En los casos que sea necesario, el producto farmacéutico también puede incluir un agente solubilizante y un anestésico local tal como lignocaína para aliviar el dolor en el sitio de inyección. En

general, los ingredientes se proporcionan ya sea por separado o mezclados juntos en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado o un concentrado sin agua en un recipiente sellado herméticamente tal como una ampolla o sachet que indique la cantidad de agente activo. En los casos en los que el producto farmacéutico deba administrarse por infusión, puede dosificarse con un frasco de infusión que contenga agua de grado farmacéutico estéril o solución salina. En los casos en los que el producto farmacéutico se administre por inyección, puede proporcionarse una ampolla de agua esterilizada para inyección o solución salina de modo tal que los ingredientes puedan mezclarse antes de la administración.

Una composición farmacéutica para administración sistémica puede ser un líquido, por ejemplo, solución salina estéril, solución de Hank o Ringer lactada. Además, la composición farmacéutica puede encontrarse en forma sólida y volver a disolverse o suspenderse inmediatamente antes de utilizarse. También se contemplan las formas liofilizadas.

20

La composición farmacéutica puede estar contenida dentro de una vesícula o partícula lipídica, tal como un liposoma o microcristal, que también es adecuado para la administración parenteral. Las partículas pueden tener cualquier estructura

adecuada, tal como unilamelares o plurilamelares, siempre que las composiciones se encuentren contenidas en estas. Los compuestos pueden estar atrapados en "partículas lipídicas de plásmido estabilizadas" (SPLP) que contienen el lípido fusogénico dioleoilfosfatidiletanolamina (DOPE), bajos niveles (5-10 mol%) de lípido catiónico, y se encuentran estabilizadas con un recubrimiento de polietilenglicol (PEG) (Zhang Y. P. et ál., Gene Ther. 1999, 6:1438-47). Dichas vesículas o partículas prefieren particularmente los lípidos cargados positivamente, tales como N-[1-(2,3-dioleoiloxi)propil]-N,N,N-trimetil-amoniometilsulfato, o "DOTAP". La preparación de dichas partículas de lípidos es ampliamente conocida. Véase, por ejemplo, las patentes estadounidenses N.º 4.880.635; 4.906.477; 4.911.928; 4.917.951; 4.920.016 y 4.921.757.

Las composiciones farmacéuticas de la presente descripción pueden administrarse o envasarse como una dosis unitaria, por ejemplo. La expresión "dosis unitaria", cuando se utiliza en referencia a una composición farmacéutica de la presente descripción, se refiere a unidades separadas físicamente adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto, en las que cada unidad contiene una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico

deseado, junto con el diluyente necesario, es decir, portador o vehículo.

En algunas modalidades, un compuesto descrito en la presente
5 puede estar conjugado con un resto terapéutico, por ejemplo, un agente antiinflamatorio. Las técnicas para conjugar dichos restos terapéuticos con polipéptidos, que incluyen dominios Fc, son conocidas; ver, por ejemplo, Amon et ál., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cáncer Therapy", en
10 Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et ál. (eds.), 1985, págs. 243-56, Alan R. Liss, Inc.); Hellstrom et ál., "Antibodies For Drug Delivery", en Controlled Drug Delivery (2ª Ed.), Robinson et ál. (eds.), 1987, págs. 623-53, Marcel Dekker, Inc.); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic
15 Agents In Cáncer Therapy: A Review", en Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pinchera et ál. (eds.), 1985, págs. 475-506); !Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cáncer Therapy", en Monoclonal Antibodies For Cancer Detection
20 And Therapy, Baldwin et ál. (eds.), 1985, págs. 303-16, Academic Press; y Thorpe et ál. (1982) "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates", Immunol. Rev., 62:119-158.

Además, la composición farmacéutica puede proporcionarse como un kit farmacéutico que comprende (a) un recipiente que contiene el compuesto de la tecnología sujeto en una forma liofilizada y (b) un segundo recipiente que contiene un diluyente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua esterilizada) para inyección. El diluyente farmacéuticamente aceptable puede utilizarse para la reconstrucción o la dilución del compuesto liofilizado de la tecnología sujeto. En asociación con dicho o dichos recipientes se puede incluir una nota de la forma prescrita por un organismo gubernamental que regule la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos o biológicos, que refleje la aprobación por parte del organismo con respecto a la fabricación, el uso o la venta para administración a humanos.

15

En otro aspecto, se incluye un artículo de fabricación que contiene materiales útiles para el tratamiento de las enfermedades descritas anteriormente. En algunas modalidades, el artículo de fabricación comprende un recipiente y una etiqueta. Los contenedores adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringas y tubos de ensayo. Los contenedores se podrán formar a partir de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico. En algunas modalidades, el recipiente contiene una composición que es eficaz para el tratamiento de

20

una enfermedad descrita en la presente y puede tener un puerto de acceso esterilizado. Por ejemplo, el recipiente puede tener un vial o una bolsa de solución intravenosa con un tapón que pueda perforarse con una aguja de inyección hipodérmica. El agente activo en la composición es un compuesto de la tecnología sujeto. En algunas modalidades, la etiqueta que se encuentra en el recipiente o se asocia a este indica que la composición se utiliza para tratar la enfermedad elegida. El artículo de fabricación puede comprender además un segundo contenedor que comprende un amortiguador farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer o solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde el punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros amortiguadores, diluyentes, filtros, agujas, jeringas y prospectos con instrucciones de uso.

Sin ahondar en detalles, se cree que un experto en la técnica puede, en función de la descripción anterior, utilizar la presente descripción en la mayor medida posible. Las siguientes modalidades específicas se interpretarán, por lo tanto, como meramente ilustrativas, y no se limitan al resto de la descripción de ningún modo. Todas las publicaciones citadas en la presente se incorporan mediante referencia a los efectos de

la materia a la que se hace referencia en la presente.

EJEMPLOS

5 Ejemplo 1. Construcción de compuestos ilustrativos que se dirigen a IL23A y BAFF

Los compuestos de la tecnología sujeto se produjeron mediante métodos recombinantes conocidos en la técnica (ver, por
10 ejemplo, las publicaciones de PCT WO 2006/113665, WO 2008/157379 y WO 2010/080538, los contenidos de las cuales se incorporan a la presente mediante referencia). La Tabla 2A a continuación proporciona compuestos ilustrativos que se unen a IL23A y BAFF que se utilizaron en los Ejemplos siguientes. En
15 resumen, los plásmidos que codifican el primer y el segundo polipéptido para cada compuesto se transfectaron juntos en células CHO-S mediante el uso del reactivo FreeStyle MAX (CHO). Las células se cultivaron durante 13-14 días y los compuestos producidos por las células se purificaron mediante el uso de
20 cromatografía de proteína A. Los compuestos se purificaron adicionalmente mediante el uso de cromatografía de exclusión por tamaño.

Tabla 2A. Compuestos de unión a IL23A y BAFF ilustrativos

ID del Compu esto	vL de cadena larga	vH de cadena larga	vL de cadena a corta	vH de cadena corta	3.er o 4° tipo de enlazador	Isotipo de dominio constante	SEQ ID NO: (1.er/ 2° polipé ptido)
Compu esto E	BAFF (1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (1) VH (SEQ ID NO:1)	LGGGSG (SEQ ID NO:70)	IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:128)	5/6
Compu esto V	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF (1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO:70)	IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:128)	7/8
Compu esto U	BAFF (1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (1) VH (SEQ ID NO:1)	E (C-1) (SEQ ID NO:82) , K-coil (C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc-IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:129)	9/10

Compu esto T	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF (1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	E (C-1) (SEQ ID NO:82) , K- coil (C -1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:129)	11/12
Compu esto X	BAFF (1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1)) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (1)) VH (SEQ ID NO:1)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	13/14
Compu esto F	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF (1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	15/16
Compu esto W	BAFF (1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1)) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (1)) VH (SEQ ID NO:1)	E (C-1) (SEQ ID NO:82) , K- coil (C -1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	17/18

Compu esto S	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF(1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF(1)) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C- 1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	19/2 0
Compu esto G	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	21/2 2
Compu esto AA	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C- 1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:129)	23/2 4
Compu esto I	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	25/2 6

Compu esto AB	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C- 1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:129)	27/2 8
Compu esto K	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	29/3 0
Compu esto AC	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C- 1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:129)	31/3 2
Compu esto M	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	33/3 4

Compu esto AD	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C- 1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	35/3 6
Compu esto C	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	37/3 8
Compu esto AE	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A(1)) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C -1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:129)	39/4 0
Compu esto D	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A(1)) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	41/4 2

Compu esto AF	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C -1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	43/4 4
Compu esto A	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	45/4 6
Compu esto AG	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82) , K- coil(C -1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:129)	47/4 8
Compu esto B	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:74)	49/5 0

Compu esto AH	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	E (C-1) (SEQ ID NO:82) , K- coil (C -1) (SEQ ID NO:83)	Fc- IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	51/5 2
Compu esto H	BAFF (4) VL (SEQ ID NO:85)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	53/5 4
Compu esto J	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:74)	55/5 6
Compu esto L	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	57/5 8
Compu esto N	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:74)	59/6 0
Compu esto O	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A (1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	61/6 2

Compu esto P	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:74)	63/64
Compu esto Q	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO- YTE (SEQ ID NO:128)	65/66
Compu esto R	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	LGGGS G (SEQ ID NO: 70)	IgG4- Pro-YTE (SEQ ID NO:74)	67/68

VL = cadena ligera de dominio variable, VH = cadena pesada de dominio variable, cada cadena comprende el enlazador GGGSGGG (SEQ ID NO:69) entre la VL y el VH.

- 5 También se utilizaron anticuerpos de control con fines de comparación. Los controles fueron anticuerpos monoclonales que se dirigían a BAFF o IL23.

Tabla 2B. Anticuerpos/antagonistas de control

Compuestos de control	Secuencia	
Anticuerpo de control 1 (anticuerpo monoclonal anti-BAFF) (BAFF (1))	BAFF(1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF(1) VL (SEQ ID NO:2)
Antagonista de proteína de fusión de control 2 (antagonista selectivo de BAFF que no es un anticuerpo) (BAFF (2))	BAFF(2) (SEQ ID NO:131)	
Anticuerpo de control 3 (anticuerpo monoclonal anti-BAFF) (BAFF (3))	BAFF(3) VH (SEQ ID NO:132)	BAFF(3) VL (SEQ ID NO:133)
Anticuerpo de control 4 (anticuerpo monoclonal anti-IL-23A) (IL-23A (1))	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)

Ejemplo 2: Estabilidad térmica de los compuestos

Métodos

5

Se monitoreó el despliegue térmico y la agregación de soluciones de los compuestos de 2 mg/ml en amortiguador de fosfato de 20 °C a 110 °C a una velocidad de barrido de 60 °C/h mediante DSC capilar automático (MicroCal, LLC, Boston). Se

10 llevaron a cabo dos barridos con el amortiguador

correspondiente para establecer el historial térmico del instrumento y obtener el punto de referencia del instrumento para cada muestra, con el promedio de estos barridos sustraído del termograma de proteína posterior para obtener la capacidad 5 térmica aparente. Luego, se analizaron los barridos normalizados con Origin 7.0. Los puntos de referencia previos a la transición se sustrajeron de cada termograma de capacidad térmica resultante para proporcionar la capacidad térmica excedente resultante ($C_{p,ex}$) en función de la temperatura. Los 10 valores indicados de las temperaturas de transición (T_m) representan las posiciones de los picos máximos determinados mediante inspección visual de los termogramas experimentales.

Resultados

15

Los resultados se muestran en la Tabla 3. Los datos muestran que los compuestos de ejemplo que se dirigen a IL23A y BAFF tienen un intervalo de temperaturas de transición para el primer pico (T_{m1}), que varía de 51.59 a 71.25°C. Los resultados 20 son sorprendentes porque todos los compuestos de ejemplo tuvieron la misma estructura general y contuvieron las mismas secuencias de gen de VH y VL que se dirigen a IL-23A. Los compuestos con temperaturas de transición superiores son más estables y se previó que tengan una vida útil más larga.

Tabla 3. Temperaturas de transición de despliegue térmico para los compuestos

ID del Compuesto	T _{m1} (°C)	T _{m2} (°C)
Compuesto A	69.35	83.63
Compuesto B	65.87	--
Compuesto C	67.89	82.36
Compuesto D	64.93	--
Compuesto E	51.59	68.8
Compuesto F	52.75	64.48
Compuesto G	70.88	83.21
Compuesto H	71.25	83.62
Compuesto I	67.83	--
Compuesto J	68.26	--
Compuesto K	68.33	83.23
Compuesto L	68.3	82.58
Compuesto M	64.98	--
Compuesto N	65.52	--
Compuesto O	67.79	83.85
Compuesto P	65.09	--
Compuesto Q	69.19	81.9
Compuesto R	65.97	--
Compuesto X	52.36	64.53

Ejemplo 3. Afinidad mediante resonancia de plasmones superficiales (SPR) de los ejemplos ilustrativos

Se analizaron los compuestos de prueba mediante SPR para
5 determinar la afinidad para BAFF e IL23A.

Materiales y métodos:

Los experimentos de SPR se llevaron a cabo en un instrumento
10 ProteOn XPR36 (Bio Rad). Se acondicionó previamente un chip de GLM con inyecciones secuenciales de 60 s de SDS al 0.5 %, NaOH 50 mM y HCl 100 mM una velocidad de flujo de 30 μ l/min en dirección vertical y horizontal.

15 Luego, se activó el chip de GLM acondicionado previamente mediante una inyección de una mezcla de EDC (76.7 mg/ml) y sulfo-NHS (21.7 mg/ml) en una relación de 1:1 en 6 canales horizontales. Se inmovilizó el Fc de IgG de cabra anti-humano (GAHA) gamma (Invitrogen) a una concentración de 30 μ g/ml en
20 amortiguador de acetato de sodio 10 mM, pH 5.0 a 8000 unidades de resonancia en el chip GLM activado en 6 canales horizontales. Finalmente, se desactivó el chip con HCl de etanolamina 1 M en 6 canales horizontales. El chip de GAHA preparado se rotó a una dirección vertical para capturar los

compuestos de prueba, con respecto a 5 canales verticales y el último canal se utilizó como una columna de referencia.

Luego, el chip capturado se rotó nuevamente hacia la dirección horizontal para su unión. Se inyectaron IL-23 humanas unidas (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc) con cinco concentraciones, 10.0 nM, 5.00 nM, 2.50 nM, 1.25 nM y 0.625 nM, de manera horizontal con respecto a las superficies de los compuestos de prueba durante 10 minutos a una velocidad de flujo de 40 µl/min en el siguiente amortiguador de ejecución (Bio Rad): solución salina amortiguada con fosfato (pH 7.4), Tween 20 al 0.005 %. Se permitió la disociación durante 2 horas. La superficie de GAHA se regeneró mediante el uso de inyección de pulso corto (18 segundos) de ácido fosfórico al 0.85 % (Bio Rad) a una velocidad de flujo de 100 µl/min tanto en dirección horizontal como vertical después de una asociación de 10 min y una disociación de 2 h. La GAHA regenerada estaba lista para otro ciclo de unión. La unión de compuestos de IL23 cynomolgus, BAFF humano o BAFF de cynomolgus se llevó a cabo en una forma similar, pero las concentraciones de titulación para la unión al BAFF humano o BAFF de cynomolgus son 6.25 nM, 3.12 nM, 1.56 nM, 0.78 nM y 0.39 nM.

Resultados:

Los resultados en la Tabla 4 muestran que ambos compuestos evaluados fueron capaces de unirse a BAFF e IL23 con una constante de disociación (KD) en el intervalo picomolar.

5 Tabla 4. Afinidad de unión de los compuestos a BAFF e IL23

ID del Compuesto	KD para BAFF humana (pM)	KD para BAFF de cynomolgus (pM)	KD para IL23 humana (pM)	KD para IL23 de cynomolgus (pM)
Compuesto A	< 15	< 15	< 15	< 15
Compuesto B	< 15	< 15	< 15	< 15
Compuesto C	< 15	< 15	< 15	< 15
Compuesto D	< 15	< 15	< 15	< 15
Compuesto E	< 15	< 15	< 15	< 15
Compuesto F	< 15	< 15	< 15	< 15

Ejemplo 4. Inhibición de activación de NFkB inducida por un trímero de BAFF de cynomolgus y humano en células informantes

de luciferasa BAFFR-CHO*Materiales/métodos:*

5 En resumen, las células informantes de luciferasa nFkB BAFFR
CHO humanas se recolectan, se lavan, se cuentan y se
resuspenden en una concentración de 1.6×10^6 células por ml
en un medio de ensayo (AM) de penicilina/estreptomicina al 1 %
(v/v) en X-VIVO15, un medio libre de suero definido
10 químicamente (Lonza). El trímero de BAFF humano o de cynomolgus
recombinante (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) se
preparó en una concentración única (52 pM) en AM y se
preincubaron con AM solo o con titulaciones seriales del
compuesto de prueba durante 30 minutos a 37 °C, CO₂ al 5 % en
15 una incubadora humidificada. Luego de la preincubación de BAFF
+ compuesto de prueba, se agregaron 50 ul de la o las mezclas
a 50 ul de las células y la placa de prueba se incubó
adicionalmente a 37 °C (como se describe) durante 24 horas.
Las muestras de control recibieron AM (controles sin
20 estimulación) o un trímero de BAFF recombinante diluido en AM
(controles con estimulación). Luego de 24 horas de incubación,
la suspensión celular se trató con el reactivo STEADY-Glo 100
ul (Promega), siguiendo las instrucciones del fabricante, y se
sometió a ensayo para la expresión de luciferasa. Las unidades

de luminiscencia relativas (RLU) resultantes se graficaron contra la concentración nanomolar Log10 del compuesto de prueba, donde los valores IC₅₀ e IC₉₀ se calcularon mediante el uso de un modelo logístico de 4 parámetros, soportado por el complemento Xlfit de Excel (ID Business Solutions Limited). Los valores de IC₅₀ e IC₉₀ del compuesto de prueba se calcularon como se describen anteriormente y Geomeans se calcularon a través de múltiples experimentos y se muestran en la Tabla 5 y Tabla 6.

Resultados:

Los compuestos de prueba inhibieron, de forma dependiente de la dosis, la activación de NFκB inducida por el trímero de BAFF humano y de cynomolgus en células informantes de luciferasa BAFFR-CHO. Los resultados ilustrados en la Tabla 5 y 6 indican que los valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para los compuestos de prueba fueron comparables o más potentes que los antagonistas de BAFF de control.

Tabla 5: Valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para la inhibición del trímero de BAFF humano en células informantes BAFFR-CHO

ID del Compuesto	IC50 (pM)	IC90
------------------	-----------	------

		(pM)
Compuesto A	43	180
Compuesto B	39	256
Compuesto C	35	110
Compuesto D	34	172
Compuesto F	72	293
Compuesto O	27	119
Compuesto P	19	88
Compuesto Q	26	108
Compuesto R	30	139
Compuesto X	106	361
Anticuerpo de control 1 (BAFF (1))	232	743
Antagonista de proteína de fusión de control 2 (BAFF (2))	173	914
Anticuerpo de control 3 (BAFF (3))	70	417

Tabla 6: Valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para la inhibición del trímero de BAFF de cynomolgus en células informantes BAFFR-CHO

ID del Compuesto	pM de la media	pM de la media
-------------------------	---------------------------	---------------------------

	geométrica IC₅₀	geométrica IC₉₀
Compuesto A	132	191
Compuesto B	132	295
Compuesto D	118	248
Anticuerpo de control 1 (BAFF (1))	288	635
Antagonista de proteína de fusión de control 2 (BAFF (2))	602	1089
Anticuerpo de control 3 (BAFF (3))	257	588

Ejemplo 5. Inhibición de activación de NFkB inducida por un
trímero de BAFF humano en células informantes de luciferasa
TACI-CHO

5

Materiales/métodos:

En resumen, las células informantes de luciferasa nFkB TACI
CHO humanas se recolectan, se lavan, se cuentan y se
10 resuspenden en una concentración de 1.6×10^6 células por ml
en un medio de ensayo (AM) de penicilina/estreptomicina al 1 %
(v/v) en X-VIVO15, un medio libre de suero definido

químicamente (Lonza). El trímero de BAFF humano recombinante (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) se preparó en una concentración única (222 pM) en AM y se preincubaron con AM solo o con titulaciones seriales del compuesto de prueba durante 30 minutos a 37 °C, CO₂ al 5 % en una incubadora humidificada. Luego de la preincubación de BAFF + compuesto de prueba, se agregaron 50 ul de la o las mezclas a 50 ul de las células y la placa de prueba se incubó adicionalmente a 37 °C (como se describe) durante 24 horas. Las muestras de control recibieron AM (controles sin estimulación) o un trímero de BAFF humano recombinante diluido en AM (controles con estimulación). Luego de 24 horas de incubación, la suspensión celular se trató con el reactivo STEADY-Glo 100 ul (Promega), siguiendo las instrucciones del fabricante, y se sometió a ensayo para la expresión de luciferasa. Las unidades de luminiscencia relativas (RLU) se graficaron contra la concentración nanomolar Log₁₀ del compuesto de prueba, donde los valores IC₅₀ e IC₉₀ se calcularon mediante el uso de un modelo logístico parámetro 4, soportado por el complemento Xlfit de Excel (ID Business Solutions Limited). Los valores de IC₅₀ e IC₉₀ del compuesto de prueba se calcularon como se describen anteriormente y Geomeans se calcularon a través de múltiples experimentos y se muestran en la Tabla 7.

Resultados:

Los compuestos de prueba inhibieron, de forma dependiente de la dosis, la activación de NFkB inducida por el trímero de BAFF humano en células informantes de luciferasa TACI-CHO. Los resultados ilustrados en la Tabla 7 indican que los valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para el compuesto de prueba fueron comparables a o más potentes que los antagonistas de BAFF de control.

10

Tabla 7: Valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para la inhibición del trímero de BAFF humano en células informantes TACI-CHO

ID del Compuesto	pM de la media geométrica IC ₅₀	pM de la media geométrica IC ₉₀
Compuesto A	159	417
Compuesto B	159	510
Compuesto D	163	436
Anticuerpo de control 1 (BAFF (1))	273	576
Antagonista de proteína de fusión de control 2	829	1945

(BAFF (2))		
Anticuerpo de control 3 (BAFF (3))	241	618

Ejemplo 6. Inhibición de activación de NFkB inducida por un 60mer de BAFF en células informantes de luciferasa BAFFR-CHO

Materiales/métodos:

5

En resumen, las células informantes de luciferasa nFkB BAFFR CHO humanas se recolectan, se lavan, se cuentan y se resuspenden en una concentración de 1.6×10^6 células por ml en un medio de ensayo (AM) de penicilina/estreptomicina al 1 % (v/v) en X-VIVO15, un medio libre de suero definido químicamente (Lonza). El 60mer de BAFF humano recombinante (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) se preparó en una concentración única (4.2 pM) en AM y se preincubaron con AM solo o con titulaciones seriales del compuesto de prueba durante 30 minutos a 37 °C, CO₂ al 5 % en una incubadora humidificada. Luego de la preincubación de BAFF + compuesto de prueba, se agregaron 50 ul de la o las mezclas a 50 ul de las células y la placa de prueba se incubó adicionalmente a 37 °C (como se describe) durante 24 horas. Las muestras de control recibieron AM (controles sin estimulación) o un 60mer de BAFF humano recombinante diluido en AM (controles con estimulación). Luego de 24 horas de incubación, la suspensión celular se trató

10

15

20

con el reactivo STEADY-Glo 100 ul (Promega), siguiendo las instrucciones del fabricante, y se sometió a ensayo para la expresión de luciferasa. Las unidades de luminiscencia relativas (RLU) se graficaron contra la concentración nanomolar Log10 del compuesto de prueba, donde los valores IC_{50} e IC_{90} se calcularon mediante el uso de un modelo logístico parámetro 4, soportado por el complemento Xlfit de Excel (ID Business Solutions Limited). Los valores de IC_{50} e IC_{90} del compuesto de prueba se calcularon como se describen anteriormente y Geomeans se calcularon a través de múltiples experimentos y se muestran en la Tabla 8.

Resultados:

Los compuestos de prueba inhibieron, de forma dependiente de la dosis, la activación de NFkB inducida por el 60mer de BAFF humano en células informantes de luciferasa BAFFR-CHO. Los resultados ilustrados en la Tabla 8 indican que los valores de la media geométrica IC_{50} e IC_{90} para los compuestos de prueba A, B, C, D, O, P, Q y R fueron más potentes que los tres antagonistas de BAFF de control.

Tabla 8: Valores de la media geométrica IC_{50} e IC_{90} para la inhibición del 60mer de BAFF humano en células informantes

BAFFR-CHO

ID del Compuesto	IC ₅₀ (pM)	IC ₉₀ (pM)
Compuesto A	6	19
Compuesto B	6	17
Compuesto C	6	14
Compuesto D	4	12
Compuesto F	1300	7388
Compuesto O	5	6
Compuesto P	2	9
Compuesto Q	5	13
Compuesto R	5	16
Compuesto X	1555	6839
Anticuerpo de control 1 (BAFF (1))	24075	180053
Antagonista de proteína de fusión de control 2 (BAFF (2))	43	107
Anticuerpo de control 3 (BAFF (3))	15	38

Ejemplo 7: Neutralización de la activación de NFκB inducida por BAFF unido a la membrana en células informantes de

Materiales/métodos:

Las células CHO-K1 que expresan BAFF humano se contaron y resuspendieron a una concentración de 2×10^6 células por ml en medio de crecimiento estándar. Para detener la escisión del BAFF unido a la membrana, las células se trataron con paraformaldehído al 0.125 % (Electron Microscopy) y se incubaron a temperatura ambiente durante una hora. Las células BAFF CHO-K1 humanas fijas se lavaron y resuspendieron luego a 2×10^6 células por ml en medio de crecimiento estándar y se incubaron durante la noche a 37°C , CO_2 al 5 %. Las células BAFF CHO-K1 humanas fijas se recolectaron y resuspendieron luego a una concentración 3.2×10^6 células por ml en X-VIVO15, un medio de ensayo libres de suero definido químicamente (Lonza) (AM) que contienen pencilina/estreptomicina al 1 % (v/v).

Las células informantes de luciferasa nFkB BAFFR CHO humanas se recolectan, se lavan, y se resuspenden en una concentración de 1.6×10^6 células por ml en un medio de ensayo. Las células BAFF CHO-K1 humanas fijas preparadas a 3.2×10^6 células por ml en AM y preincubadas con titulaciones seriales de los compuestos de prueba durante 30 minutos se agregaron luego a 50 μl de células informantes de luciferasa NFkB BAFFER CHO

humanas e incubadas adicionalmente a 37 °C durante 24 horas. Las células informantes de control recibieron AM solo (controles sin estimulación) o las células BAFF CHO-K1 humanas fijas se diluyeron en AM (controles con estimulación). Luego
5 de 24 horas de incubación, las muestras se trataron con el reactivo STEADY-Glo 100 ul (Promega), y se sometió a ensayo para determinar la expresión de luciferasa. Las unidades de luminiscencia relativas (RLU) se graficaron contra la concentración nanomolar Log_{10} del compuesto de prueba, donde
10 los valores IC_{50} e IC_{90} se calcularon mediante el uso de un modelo logístico de 4 parámetros, soportado por el complemento Xlfit de Excel (ID Business Solutions Limited). Los valores de IC_{50} e IC_{90} de los compuestos de prueba se calcularon como se describen anteriormente y Geomeans se calcularon a través de
15 múltiples experimentos y se muestran en la Tabla 9.

Resultados

Los compuestos de prueba inhibieron, de forma dependiente de
20 la dosis, la activación de NFkB inducida por BAFF humano unido a las membranas en células informantes de luciferasa BAFFR-CHO. Los resultados ilustrados en la Tabla 9 indican que los valores IC_{50} e IC_{90} para los compuestos de prueba fueron más potentes que los tres antagonistas de BAFF de control.

Tabla 9: Valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para la inhibición de mbBAFF en células informantes BAFFR-CHO

ID del Compuesto	IC ₅₀ (pM)	IC ₉₀ (pM)
Compuesto A	118	1015
Compuesto B	125	1139
Compuesto D	104	938
Anticuerpo de control 1 (BAFF (1))	553	10116
Antagonista de proteína de fusión de control 2 (BAFF (2))	581	3678
Anticuerpo de control 3 (BAFF (3))	250	2916

Ejemplo 8: Inhibición de la actividad de IL-23 humana en
 5 linfocitos B de linfoblastos (células DB) con células
informantes de luciferasa de STAT3

Materiales/métodos:

10 Los linfocitos B de linfoblastos (células DB; n.º de catálogo

de ATCC CRL-2289) se transdujeron de forma estable con un STAT-3 lentiviral/gen informante de luciferasa (Qiagen). Las células transducidas se mantuvieron bajo selección mediante el uso de puromicina (Life Technologies). El medio de cultivo completo fue medio RPMI-1640 (Life Technologies) complementado con FBS al 10 % (Hyclone) y puromicina 2 µg/mL (Life Technologies). El medio de ensayo fue un medio RPMI-1640 (Life Technologies) complementado con FBS al 10 % (Hyclone).

Las células DB-STAT3 modificadas se cultivaron a 20 000 células/pocillo en una placa blanca de 96 pocillos de fondo plano a 80 µL/pocillo en un medio de ensayo. Los compuestos de prueba (10x) se prepararon en placas de 96 pocillos de fondo redondo de polipropileno en un medio de ensayo y se diluyeron de forma acorde para crear intervalos de dosis de 1 µg/mL a 10 pg/mL. 10 µL de moléculas de prueba o medio de ensayo diluido (para pocillos de control) se agregaron a cada pocillo en tres veces. 10 µL of 10x de IL-23 humana (a una concentración final de 75 ng/mL por placa) se agregaron a cada pocillo. Alternativamente, se agregaron 10 µL de medio a los pocillos de control. La dosis de IL-23 seleccionada para el uso en el ensayo representa la dosis estimulante EC₆₀ de IL-23 humana para células DB modificadas como se determina en los estudios anteriores. Se incubaron las placas durante la noche a 37 °C

en CO₂ al 5 %. El reactivo de ensayo de luciferasa ONE-Glo™ (Promega) se preparó y se agregaron 100 µL a cada pocillo y se mezclaron. La luminiscencia se midió en un lector de placas Envision y luego se graficó (eje y) contra la concentración del anticuerpo (eje x). Los valores IC₅₀ de los compuestos se determinaron mediante la aplicación de los datos a una función dosis-respuesta sigmoide de 4 parámetros mediante el uso del software GraphPad Prism 6. Los valores IC₉₀ se determinaron mediante el cálculo de los datos con Find ECanything con el software GraphPad Prism 6. Las medias geométricas se calcularon a través de los múltiples experimentos y se muestran en la Tabla 10.

Resultados

Los resultados mostraron que los compuestos evaluados fueron capaces de inhibir la actividad de IL-23 humana en células DB con informantes de luciferasa de STAT3.

Tabla 10. Valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para la inhibición de la IL-23 humana en linfocitos B de linfoblastos.

ID del Compuesto	IC ₅₀ (pM)	IC ₉₀ (pM)
------------------	--------------------------	--------------------------

Compuesto A	145	1229
Compuesto B	161	1101
Compuesto C	189	2330
Compuesto D	128	3087
Anticuerpo de control 4 (IL-23a (1))	79	634

Ejemplo 9: Inhibición de la actividad de IL-23 humana y de cynomolgus en esplenocitos de ratón

5 *Materiales y métodos*

Se aislaron células mononucleares de bazos de ratón (hembra C57BL/6 de menos de 13 semanas de edad; JAX, Jackson Laboratories), se lavaron, se contaron y se resuspendieron a
10 4×10^6 células/ml en un medio de linfocitos T estándar (TCM). Se agregaron cien microlitros de la suspensión de mIL-2/esplenocitos a placas de microtitulación de 96 pocillos. Se diluyó la IL-23 humana recombinante (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) o IL-23 de cynomolgus recombinante
15 (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) en TCM y se preincubó durante 2 horas a 37 °C con TCM solo o con titulaciones de muestras de prueba. Después de la preincubación de la muestra de prueba + IL-23, se agregaron 100 μ l de la o

las mezclas a las células y se incubaron las placas de prueba a 37 °C con aire humedecido con CO₂ al 5 % durante 48 h. Las muestras de control recibieron TCM (controles sin estimulación) o IL-23 recombinante diluida en TCM (controles con estimulación). Después de la incubación, se determinaron los niveles de IL-17 a partir del sobrenadante mediante el uso de un inmunoensayo de IL-17 de ratón Quantikine® de acuerdo con las instrucciones del fabricante (R&D Systems). Se determinaron los valores pg/ml de mIL-17 interpolada para cada muestra y se convirtieron en porcentaje de control (POC). El POC se graficó en función de la concentración de la muestra de prueba y se calcularon los valores de IC₉₀ mediante el uso de un modelo de logística de 4 parámetros habilitado por el complemento XLfit de Excel (software Activity Base, ID Business Solutions, Ltd.). Se analizaron los compuestos de prueba con respecto a IC₅₀ e IC₉₀ tal como se describió anteriormente, y se calcularon las medias geométricas a través de múltiples experimentos para cada compuesto de prueba y se muestran en la Tabla 11.

20 *Resultados*

Los resultados muestran que los compuestos evaluados fueron capaces de inhibir la liberación de IL-17 en esplenocitos de ratón inducida con IL23 de cynomolgus y humana.

Tabla 11: Valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para inhibir la IL-23 humana y de cynomolgus en esplenocitos de ratón

ID del Compuesto	IL23 humana		IL23 de cyno	
	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₅₀	IC ₉₀
	(pM)	(pM)	(pM)	(pM)
Compuesto A	146	1647	155	1309
Compuesto B	202	1360	200	1480
Compuesto C	133	761	110	880
Compuesto D	105	1700	97	1554
Anticuerpo de control 4 (IL-23A (1))	84	366	64	331

Ejemplo 10. Farmacocinética de los compuestos en monos
cynomolgus

Materiales y métodos:

Se llevaron a cabo estudios de PK de dosis intravenosa (IV) única para los Compuestos de prueba A, B, C y D en monos cynomolgus macho (n = 2 por molécula). Las dosis se administraron como una inyección de bolo IV lenta de 1 mg/kg. Se recolectaron muestras de sangre entera antes de la dosis y 0.25, 2 y 6 h luego de la dosis en el día de la dosificación y

1, 2, 3, 4, 7, 10, 14, 21 y 28 días luego de la dosis. Las concentraciones en suero de moléculas dosificadas se midieron mediante un ensayo de unión al ligando basado en MSD.

5 Se prepararon muestras de la curva estándar de calibración y control de calidad (QC) en suero agrupado de monos cynomolgus al 100 %. Cada curva estándar consistió en siete puntos distintos a cero que comenzaron en 512 ng/mL y luego se diluyeron en serie tres veces. También se incluyó una muestra
10 vacía (matriz sin analito). Se prepararon cinco muestras de QC en intervalos bajo, medio y alto que comenzaron en 256 ng/ml, luego se diluyeron en serie cuatro veces hasta 8 ng/mL, luego se utilizó una dilución de 2 veces para preparar el QC más bajo a 4 ng/mL. Las muestras de curva estándar y QC se incluyeron
15 en duplicado durante cada ejecución analítica. Se definieron los límites de cuantificación inferior y superior como los puntos de QC más bajo y más alto capaces de tener concentraciones reproducibles retrocalculadas que no exceden el 30 por ciento (%) de las concentraciones nominales. El
20 criterio de aceptación para los puntos de la curva estándar fue de 30 por ciento (%) de las concentraciones nominales.

Para medir la concentración de fármaco activo en muestras de suero, se preparó una mezcla maestra, que combina la detección

de BAFF humano recombinante biotinilado 0.5 µg/mL e IgG antihumana de cabra sulfoetiquetada 0.5 µg/mL en el amortiguador de unión (BSA al 5 % en 1x PBS con Tween 20 al 0.05 %). La mezcla maestra se agregó a una placa sin unión y
5 que bloquea de luz de 96 pocillos a 50 µL por pocillo. Se agregaron veinticinco µL de estándares y QC (solución madre diluida 1:20 en amortiguador de unión) por pocillo en duplicado a la placa sin unión que contiene la mezcla maestra. Las muestras de suero desconocidas se diluyeron 1:20 en el
10 amortiguador de unión y 1:400 en el amortiguador de unión que contiene suero al 5 %. Veinticinco µL de muestras diluidas se agregaron por pocillo a placas sin unión que contienen la mezcla maestra. Las placas sin unión se incubaron a temperatura ambiente en un agitador de placas (500 rpm, 1.5 h). En paralelo,
15 se bloqueó una placa de oro de estreptavidina mediante el uso de amortiguado de bloqueo 150 µL (BSA al 5 % con 1X PBS con Tween 20 al 0.05 %) y se incubó a temperatura ambiente en un agitador de placas (500 rpm, 1.5 h). Luego de la incubación, las placas de MDS se lavaron tres veces con 300 µL por pocillo
20 de amortiguador de lavado (Tween 20 al 0.05 % en 1XPBS). Cincuenta µL de la muestra de las placas sin unión se agregaron a las placas de MDS y se incubaron a temperatura ambiente (1.5 h, 600 rpm). Luego de la incubación, las placas se lavaron tres veces con amortiguador de lavado y se agregaron 150 µL de 2x

amortiguador T de lectura a cada pocillo y se llevó a cabo la lectura inmediatamente en un MSD Sector Imager 2400. Las curvas estándar se ajustaron a una ecuación logística de cuatro parámetros mediante el uso del software MSD Sector Imager. Los parámetros farmacocinéticos se calcularon mediante el uso del análisis no compartimental en Phoenix WinNonlin 6.3 (Certara, MD, EUA).

Resultados:

La concentración en suero media (SD) con respecto a los perfiles temporales para los compuestos de prueba se ilustran en la Figura 2. Los parámetros farmacocinéticos promedio (SD) para los compuestos de prueba se resumen en la Tabla 12. Las muestras de suero que muestran una disminución abrupta en la concentración de fármaco en el tiempo, que se confirmó que fueron positivas para el anticuerpo antifármaco se excluyeron de los cálculos de parámetros farmacocinéticos.

Tabla 12: Los parámetros farmacocinéticos medios (SD) de los compuestos de prueba en monos cynomolgus machos luego de una dosis intravenosa única de 1 mg/kg.

ID del Compuesto	AUC _{0-última}	AUC _{0-inf}	CL	Vss	T $\frac{1}{2}$

	($\mu\text{g}\cdot\text{d}/\text{mL}$)	($\mu\text{g}\cdot\text{d}/\text{mL}$)	($\text{mL}/\text{día}/\text{kg}$)	(mL/kg)	(días)
Compuesto A	52.5 (6.6)	54.2 (7.1)	18.6 (2.4)	61.6 (4.3)	3.1 (0.3)
Compuesto B	102.7 (1.8)	127.0 (3.6)	7.9 (0.2)	64.4 (6.6)	6.2 (0.7)
Compuesto C	26.6 (1.4)	27.0 (1.3)	37.1 (1.8)	66.9 (13.2)	2.3 (0.4)
Compuesto D	33.8 (1.3)	34.5 (1.8)	29.0 (1.5)	55.7 (5.5)	2.8 (0.8)

Ejemplo 11. Predicción de la PK en humanos y la dosis en humanos de un compuesto de ejemplo

5 Se utilizó un ajuste de Dedrick elemental para ajustar las concentraciones de suero de mono medias del Compuesto B a la humana, mediante un exponente alométrico de 1.0 para el volumen de distribución y 0.85 para depuración. El perfil de concentración-tiempo de suero i.v. humano predicho se ajustó a

10 un modelo de dos compartimentos lineales. El perfil de concentración-tiempo de suero s.c. humano se predijo mediante la combinación de parámetros a partir del modelo i.v. de dos compartimentos con la velocidad de absorción s.c. media y biodisponibilidad observada para los mAb terapéuticos

15 comercializados. Se predice que la depuración y semivida

terminal es de 0.34 L/d y 9.9 d en humanos saludables, respectivamente. El perfil de concentración-tiempo de suero humano previsto del Compuesto B, luego de una dosis s.c. de 100 mg administrada una vez cada dos semanas se muestra en la

5 Figura 3

La dosis eficaz humana prevista es 1 mg/kg administrada s.c. una vez cada dos semanas. Este régimen de dosis se prevé para mantener una $C_{min} \geq 30$ nM (6 $\mu\text{g/mL}$) con una administración s.c.

10 bisemanal o menos frecuente. La dosis eficaz prevista puede basarse en las respuestas a la concentración-biomarcador Pd observadas para belimumab (Benlysta®), tabalumab y blisibimod en pacientes con SLE y RA. En estos estudios, la inhibición máxima de biomarcadores asociados con BAFF se relaciona con

15 una C_{min} en estado estable de 30-40 nM. La concentración necesaria para neutralizar IL23 es mucho más baja que la necesaria para neutralizar BAFF y, por lo tanto, no tiene un impacto en la C_{min} necesaria general para el antagonista dual.

20 Ejemplo 12. Purificación de compuestos

Métodos:

Los compuestos se purificaron mediante el uso de Mab Select

SuRe como una etapa de purificación por afinidad.

La elución se llevó a cabo mediante el uso de un amortiguador de acetato de sodio, pH 3.5. A continuación de la purificación con Mab Select SuRe, la muestra se neutralizó y se aplicó a una resina Poros 50 HS y se eluyó mediante el uso de un gradiente de cloruro de sodio en un amortiguador de citrato de sodio. El pico de monómero se eluye a 20 mM de NaCitrato y NaCl 120 mM pH 6.0. A continuación de la cromatografía de intercambio de iones, la muestra fue constantemente monómero >95 %.

Se utilizó un experimento de velocidad de sedimentación (SV) mediante ultracentrifugación analítica (AUC) para proporcionar información sobre la pureza de la muestra y los estados de agregación. Las muestras fueron centrifugadas en XL-I óptima (Beckman Coulter, Fullerton, CA) a 20 °C mediante un rotor de cuatro orificios An60Ti con una ejecución a 40 000 rpm. El proceso de sedimentación se monitoreó mediante absorbancia ultravioleta a 280 nm, mediante el uso del amortiguador de dilución correspondiente como amortiguador de referencia. La variación en la distribución de concentración en la célula de la ultracentrífuga con el transcurso del tiempo se recolectó mediante el uso del software operativo de XL-I y se analizó

mediante el uso de un modelo de distribución continua $c(S)$ en el software SEDFIT (versión 14.1) para proporcionar el coeficiente de distribución de sedimentación. Se calculó el porcentaje de monómero en función del área de pico integrada.

5

Resultados:

Los resultados de la purificación de los compuestos se muestran en la tabla 13. Los datos muestran que los compuestos tienen una pureza y homogeneidad altas que indican una estabilidad

10 satisfactoria.

Tabla 13

Nombre del parámetro	Compuestos A, B, C, D
Porcentaje de monómero (velocidad de sedimentación)	monómero al 99 % agregado al 1 %

15 Ejemplo 13: Perfil de espectrometría de masas de los compuestos

Métodos:

Muestra natural

20

Este procedimiento proporcionó la masa intacta del compuesto o

la proteína. Se inyectaron 0.15 ul de la muestra a una columna Agilent Poroshell 300SB-C3, 5 um, (30x1.0mm). La temperatura de la columna fue de 80 °C y la velocidad de flujo fue de 150 ul/min. El compuesto o la proteína se eluyó de la columna con un gradiente de B al 10 % a los 0 minutos a B al 85 % a los 6 minutos. La fase móvil A fue de agua/acetonitrilo/ácido fórmico/acetato de amonio (99/1/0.1/2 mM) y la fase móvil B fue de n-propanol/acetonitrilo/agua/ácido fórmico (70/20/10/0.1). El efluente se dirigió hacia un espectrómetro de masas Agilent 6224 TOF, que se escaneó de la masa 600 a la masa 3200. Los datos sin procesar se deconvolucionaron con el programa MassHunter.

Muestra reducida

15

Este procedimiento proporcionó la masa de la proteína o la cadena ligera y la masa de la cadena pesada. 5ul de la muestra se agregaron a 5uL de una mezcla 20:1 de Guanadina 8 M HCL:TCEP y se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. 0.15ul de esta muestra se inyectó como anteriormente con las siguientes diferencias: el compuesto o la proteína se eluyó de la columna con un gradiente de B al 5 % a los 0 minutos a B al 85 % a los 6 minutos, la temperatura de la columna fue 60 °C y el intervalo de masa fue de 600-2000.

Muestra desglicosilada

Este procedimiento proporcionó la masa desglicosilada de la proteína o de la cadena ligera y de la cadena pesada. 7.5ul de la muestra se agregaron a 3.2 uL de una mezcla 20:1 de bicarbonato de amonio:PNGasa F 400 mM y se incubaron durante 3 horas a 37 °C. Luego, 10 ul de la mezcla 20:1 de Guanadina HCL:TCEP 8 mM se agregaron a la muestra y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente. Esta mezcla se inyectó tal como se describió anteriormente para la mezcla reducida.

Mapeo de péptido mediante espectrometría de masas

Se diluyeron muestras en un amortiguador de desnaturalización que consiste en GdHCl 6M, Tris-HCL 250 mM pH 7.5 y DTT 10 mM y luego se incubaron a 37 °C durante 30 minutos. Las muestras se alquilaron luego con yodoacetamida y se incubaron en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 minutos. Las mezclas de reacción se purificaron y el amortiguador se intercambió a Tris-HCL 100mM pH 7.5 mediante el uso de cartuchos Sephadex G-25 Superfine. Las muestras se digirieron luego con tripsina durante una incubación de 4 horas a 37 °C. Las mezclas de reacción digeridas se inactivaron posteriormente mediante la adición de TFA.

La digestión triptica obtenida se inyectó en una columna de fase inversa Phenomenex Jupiter C18 mediante el automuestreador de un Dionex Ultimate 3000 HPLC. Se utilizó un sistema de solvente de gradiente que consiste en solvente A: ácido fórmico al 0.1 %/agua al 99 %/acetonitrilo al 1 % y el solvente B: ácido fórmico al 0.1 %/agua al 5 %/acetonitrilo al 95 %. El porcentaje de solvente B se aumentó desde 0 % a 38 % durante 140 minutos. Se llevó a cabo la separación cromatográfica a temperatura ambiente a una velocidad de flujo de 100 µl/min. El almacenamiento de la muestra en el automuestreador fue a 4 °C. Luego de la separación cromatográfica la muestra ingresó a un espectrómetro de masas Thermo Scientific Orbitrap Fusion operado en un modo de ionización de electroaspersión positiva. El método empleado incluyó los tipos de activación de CID mediante el uso de una resolución de 30 000, una señal mínima de 10 000, un ancho de aislamiento de 1.0 y una energía de colisión normalizada de 35.0 V. El nivel de RF del lente S se estableció a 20 %. El tipo de recolección de datos es un perfil para el escaneo MS total y centroide para los datos CID MS/MS. Los datos se recolectan en un intervalo de masa de 250-2000 Da a una velocidad de adquisición de 1 espectro/segundo.

Los datos de fragmentación LC-MS y LC-MS/MS sin procesar recolectados de la digestión enzimática se analizaron mediante

el uso de Proteome Discover 1.4 (Thermo Scientific) contra la secuencia dada. Los péptidos identificados que contienen un consenso de N-X-S/T (X no es P) se analizaron luego mediante extracción manual de EIC para los péptidos glicosilados. Las intensidades de MS de los péptidos glicosilados a través de EIC se utilizaron para estimar sus porcentajes de la abundancia total de glicoformas.

Resultados:

10

Los resultados se muestran en la Tabla 14. Los datos indican que se han expresado y recuperado la estructura y la secuencia de aminoácidos prevista sin heterogeneidad inesperada. El patrón de glicosilación es típico de un anticuerpo convencional expresado en células CHO y no muestra ninguna estructura atípica.

Tabla 14:

Parámetro	Compuesto B
Espectrometría de masas: Perfil de peso molecular intacto	Secuencia intacta/coincidente

Espectrometría de masas: Perfil de glicosilación	Similar a IgG expresada en CHO
--	--------------------------------

Ejemplo 14: El contenido de monómeros en una concentración alta

El fin de la descripción de este proceso es evaluar las propiedades inherentes del compuesto B mediante la evaluación de la agregación con un aumento de concentración. Se utiliza un amortiguador estándar de NaCitrato 20 mM, NaCl 120 mM pH 6 sin evaluación de formulación para entender la propensión de moléculas al agregado.

Métodos:

El compuesto B se concentró gradualmente hasta una concentración lo más alta posible sin precipitación observada mediante el uso de un filtro de centrifugación Amicon Ultra con un peso molecular reducido de 50 000 Dalton (Millipore, Billerica). Las soluciones de proteína concentradas se sometieron luego a un análisis sec analítico para proporcionar información sobre los estados de pureza y agregación de la muestra. La cromatografía se llevó a cabo mediante el uso de HPLC Agilent Serie 1200. El sistema de ejecutó a 1.0ml/min

durante 23 minutos. ~30ug de material se inyectaron en una columna Tosoh Biosciences TSKgel G3000SWXL (5um 250a 7.8x30 cm) y los resultados se leyeron a 280 nm. Se utilizó el amortiguador de migración fosfato sódico 50 mM, L-arginina 0.2 M pH 6.8.

Resultados:

El resumen de datos SEC analítico para el compuesto B durante el proceso de concentración se enumera en la Tabla 15 y la Figura 4 Se presentan los datos que muestran agregación y pureza de muestra a concentraciones en aumento lo que demuestra que el compuesto B no tiene una propensión a agregarse con un aumento de concentración.

Tabla 15. Resumen de datos SEC analítico para el compuesto B durante el proceso de concentración

Concentración del compuesto B (mg/ml)	Datos SEC analítico
10	monómero al 99.6 %, agregado al 0.4 %
20	monómero al 99.5%, agregado al 0.5%
40	monómero al 99.6 %, agregado al 0.4 %

	agregado al 0.4 %
75	monómero al 99.5%, agregado al 0.5%
100	monómero al 99.5%, agregado al 0.5%
121	monómero al 99.5%, agregado al 0.5%

M = monómero, A = agregado

Ejemplo 15: Valencia de los compuestos

5 *Métodos:*

Se utilizó electroforesis analítica confinada a la membrana para medir la valencia de compuestos que fueron dializados previamente en un amortiguador de acetato 10 mM, KCl 50 mM pH
10 5.0 durante la noche. En la configuración experimental, se cargaron 20 μ L de muestra a 1 mg/mL en una cubeta de cuarzo de 2x2x4 mm³ cuyos dos extremos fueron sellados mediante 10 membranas de grado celulosa regenerada semipermeable MWCO. Estas membranas atrapan las macromoléculas mientras permiten
15 que pasen el agua y los componentes de solvente. Se aplicó luego una corriente eléctrica de 1 mA a través de la cubeta, lo que estableció un campo eléctrico a lo largo de su longitud

en el que la macromolécula cargada se mueve en el campo eléctrico con un flujo continuo de amortiguador fresco. Se detectó el límite de concentración móvil en tiempo real mediante el uso de una matriz de fotodiodos lineal (LPDA) que proporciona lecturas de intensidad espaciadas a lo largo de la cubeta. La velocidad del límite de concentración se utilizó para calcular la movilidad electroforética y posteriormente la valencia eficaz. Se utilizó posteriormente información adicional tal como el radio de Stokes (obtenido a partir de la velocidad de sedimentación ejecutada en el AUC), radio de contracción (0.122 nm para el ión de cloruro), conductancia de amortiguador (6.35 mS) y resistencia iónica (0.05 M) para revelar la valencia subyacente de la macromolécula.

Resultados:

Los datos de la valencia (ver Tabla 16) indican una estabilidad coloidal de los compuestos en solución, es decir, la interacción neta de la proteína y la proteína en solución. Los compuestos con una valencia mayor que 15 tienen una interacción repulsiva neta fuerte y un potencial alto para formularse a una concentración alta.

Tabla 16. Datos de valencia para los compuestos

ID del Compuesto	Valencia a pH 5.0
Compuesto A	24.4 $\pm$ 0.2
Compuesto B	21.5 $\pm$ 0.3
Compuesto D	21.8 $\pm$ 0.2

Ejemplo 16: Estabilidad en sangre entera de los compuestos.

Métodos

5

Se desarrolló un ensayo de interferencia en sangre entera en un octeto RED96 para detectar los efectos de la unión no específica o la unión fuera de la objetivo para los compuestos en presencia de la sangre entera (WB). Se incubaron las

10 soluciones de los compuestos en sangre entera y amortiguador de ejecución cinético 1x (1xkb) a una temperatura de 37 °C durante 48 horas. Se llevaron a cabo mediciones cinéticas para las muestras de compuestos incubadas con un octeto RED96 equipado con puntas de un biosensor de estreptavidina (SA)

15 (ForteBio, Menlo Park, CA) a 27 °C. Se indicó la relación de las señales de velocidad de asociación/de unión en amortiguador y sangre entera. Se consideró que una relación < 2 no muestra interferencia.

20 *Resultados*

Los resultados se muestran en la Tabla 17. No se observó una interferencia en sangre entera para los compuestos de prueba.

Tabla 17. Resultados de unión en sangre entera para los compuestos

Parámetros	Relación de señales de unión en WB/amortiguador cinético con respecto a BAFF hu	Relación de señales de unión en WB/amortiguador cinético con respecto a IL23 hu
Compuesto A	1.2	1.1
Compuesto B	1.2	1.5
Compuesto C	1.1	1.3
Compuesto D	1.3	1.7
Compuesto E	1.0	1.1
Compuesto F	1.0	1.2

Ejemplo 17: Predicción de inmunogenicidad in silico

Métodos

10

Se predijo la inmunogenicidad de terapéuticos de proteína in silico mediante el uso de una herramienta informática, EpiMatrix, que fue desarrollada por EpiVax, Inc. (Providence, RI).

EpiMatrix incorpora la predicción del epítipo que asiste a T, así como el T-epítipo, de los cuales el primero provoca una respuesta inmunitaria mientras que el último es inhibidor. En resumen, la secuencia de proteína se analizó, en primer lugar, en marcos de péptidos de 9 mer superpuestos que se había probado que eran el núcleo de la unión de HLA clase II. Se evaluó el potencial de unión de los péptidos de 9 mer con respecto a cada uno de los ocho alelos de HLA clase II comunes en función de los datos experimentales o la predicción informática. Se genera una clasificación para reflejar el potencial de unión del péptido de 9 mer con respecto a cada alelo de HLA y se lleva a cabo la normalización para hacer posible la comparación de cualquiera de 9 mer a través de múltiples alelos de HLA y permitir la predicción de inmunogenicidad a escala global. Al final, el programa genera una "clasificación de inmunogenicidad" general, clasificación tReg Adjusted Epx, la probabilidad de que los compuestos provoquen una respuesta inmunitaria in vivo.

20 *Resultados*

Los resultados se muestran en la Tabla 18. Los registros de inmunogenicidad general para los compuestos de prueba son bajos y se predice que estos compuestos posiblemente no producirán

una respuesta inmunitaria fuerte in vivo.

Tabla 18 Puntajes EpiVax

Parámetro	EpiVax (Cadena 1, Cadena 2)
Compuesto A	-46.13, -28.39
Compuesto B	-45.77, -28.39
Compuesto C	-41.40, -28.42
Compuesto D	-41.01, -28.42
Compuesto E	-39.81, -41.43
Compuesto F	-42.15, -36.94
Compuesto G	-43.75, -29.30
Compuesto H	-35.19, -43.44
Compuesto I	-43.38, -29.30
Compuesto J	-34.78, -43.44
Compuesto K	-43.75, -33.61
Compuesto L	-37.80, -43.44
Compuesto M	-43.38, -33.61
Compuesto N	-37.40, -43.44
Compuesto O	-34.66, -39.56
Compuesto P	-34.24, -39.56
Compuesto Q	-34.64, -47.37
Compuesto R	-34.22, -47.37
Compuesto S	-40.96, -40.09
Compuesto T	-43.91, -40.09

	204
Compuesto U	-41.31, -44.98
Compuesto V	-42.53, -36.94
Compuesto W	-38.33, -44.98
Compuesto X	-39.42, -41.43

Ejemplo 18: Inhibición de BAFF humano en el ensayo de proliferación de linfocitos B humanos primarios

5 *Materiales y métodos*

Las muestras de sangre saludable normales (n = 3 donantes) utilizados en este estudio se adquieren de Biological Specialty Corporation, Philadelphia, PA. El medio de cultivo completo
 10 fue IMDM (Life Technologies) complementado con FBS al 10 % (Life Technologies) más Pen/Strep (Life Technologies). El amortiguador de aislamiento de linfocitos B consiste en Mg^{++} and Ca^{++} estéril libre de DPBS (Life Technologies) más FBS al 2 % más EDTA 2 mM (Life Technologies).

15

Aislamiento de linfocitos B humanos de sangre entera humana saludable

Se transfirieron cuatrocientos mL de sangre entera heparinizada
 20 a una botella de poliestireno estéril de 1000 mL y se agregó un volumen igual de DPBS. Treinta y cinco 35 mL de sangre

diluida con PBS se colocó en la parte superior de un gradiente Ficoll-Paque™ Plus (GE Healthcare) 15 mL cargado previamente en un tubo de fondo redondo de poliestireno 50 mL. Los tubos se centrifugaron a 2000 rpm a temperatura ambiente durante 20 minutos sin parar. Luego, dos tercios del sobrenadante superior se aspiró y la capa gris media que contiene células mononucleares de sangre periférica (PBMC) se transfirieron a un tubo cónico de 50 mL. Se agregó DPBS (libre de Ca⁺⁺ y Mg⁺⁺) + FBS al 2 % FBS, hasta un volumen de 50 mL. Los tubos se centrifugaron a 1200 rpm durante 10 minutos. El sedimento celular resultante se resuspendió con DPBS (libre de Ca⁺⁺ and Mg⁺⁺) + FBS al 2 % (amortiguador de lavado) y la etapa de centrifugado (1200 rpm durante 10 minutos) se repitió. El sedimento celular se resuspendió nuevamente en amortiguador de lavado hasta 50 mL. La viabilidad celular y concentración celular se midió en este punto.

El tubo se centrifugó a 1200 rpm durante 10 minutos y el sobrenadante se descartó. El sedimento celular se resuspendió con un medio de cultivo completo y la concentración celular se ajustó a 5×10^6 células/mL. Las células suspendidas se colocaron en un matraz de cultivo de tejidos de 75 cm² en una incubadora de CO₂ al 5 % (al 37 °C) durante la noche. Los linfocitos B se aislaron luego mediante el uso del kit de

linfocitos T humanos Dynabeads® Untouched™ (Life Technologies) siguiendo el protocolo del fabricante. La concentración celular se ajustó para ser adecuada para el procedimiento corriente abajo luego de la medición de la concentración y viabilidad celular.

Evaluación de proliferación de linfocitos B mediante el uso de un ensayo de incorporación de ^3H -timidina

Los linfocitos B se cultivan en una placa de fondo redondo de 96 pocillos de cultivo de tejido Falcon (1×10^5 células/100 μL de medio de cultivo por pocillo). Luego, los artículos de prueba se prepararon a concentraciones seriales 4x que varían de 0.028 a 20 nM y estímulos de linfocitos B (anticuerpos anti-IgM y BAFF humano) en concentraciones 4x (8 $\mu\text{g/mL}$ y 20 ng/mL, respectivamente) con un medio de cultivo completo. Se agregaron 50 μL de artículos de prueba prediluidos a los pocillos respectivos (0.007 a 5 nM, concentración final). Luego, se agregaron 50 μL de IgM antihumana de cabra prediluido (2 $\mu\text{g/mL}$, concentración final) y hBAFF (5 ng/mL o 98 pM, concentración final) a los pocillos correspondientes (ver Figura 6). Se cultivaron linfocitos B en una incubadora humidificada con CO_2 al 5 % a 37 °C durante 72 horas. Dieciocho horas antes del extremo de la incubadora, se agregaron 20 μL de 1 μCi de ^3H -

timidina (Pelkin Elmer) a cada pocillo. Se utilizó un recolector de células para transferir ADN con ^3H -timidina incorporada/pocillo a una placa de filtro de vidrio de microfibra, donde se agregaron 30 μL de un potenciador de centelleo a los pocillos luego de secar al aire la placa durante al menos 4 horas. El valor de los conteos por minuto (cpm) de cada pocillo se midió mediante el uso de un MicroBeta Topcount y se graficó el valor cpm (eje y) contra la concentración de los artículos de prueba (eje x).

Análisis estadísticos:

Se determinaron IC_{50} e IC_{90} mediante el ajuste de los datos a una curva a una función de dosis-respuesta sigmoide de 4 parámetros mediante el uso del software GraphPad Prism 6. Las medias geométricas se calcularon a través de tres experimentos y se muestran en la Tabla 19.

Resultados

Los resultados mostraron que el Compuesto B parece ser aproximadamente 2 veces más potentes en comparación con un anticuerpo de control 3 cuando se comparan los valores IC_{50} e IC_{90} .

Tabla 19. Valores de la media geométrica IC₅₀ e IC₉₀ para la inhibición del BAFF humano en un ensayo de proliferación de linfocitos B humanos

ID del Compuesto	IC ₅₀ (pM)	IC ₉₀ (pM)
Compuesto B	33.7	160.2
Anticuerpo de control 3 (BAFF (3))	87.3	370.8

5 Ejemplo 19. Inhibición de la cantidad de linfocitos B B220+
inducida por la sobreexpresión de BAFF humano en ratones
B10.RIII

Materiales y métodos

10

En resumen, en el día 1, se dividieron aleatoriamente ratones hembra B10.RIII (de 6-8 semanas, Jackson Laboratory) en 10 grupos, 10 animales/grupo y se les proporcionó una inyección intraperitoneal de 100 µl de amortiguador de citrato (NaCitrato
 15 20 mM, NaCl 115 mM, pH 6.0) o compuestos de prueba a una dosis molar equivalente de 1.3, 0.4 y 0.13 mg/kg con respecto a 1, 3 y 0.1 mg/kg, respectivamente. Los ratones no tratados previamente constituyeron el control adicional. Inmediatamente

después del tratamiento en el día 1, se les administró a los ratones una dosis de 3 mg única (1.5 mg/mL) de ADN de minicírculos de BAFF humano (System Biosciences) mediante inyección hidrodinámica contra un grupo de control de vector vacío (EV). El tratamiento intraperitoneal con amortiguador de citrato o compuestos de prueba se repitió cada 72 horas en los días 3, 6, 9 y 12.

En el día 14, los ratones se anestesiaron mediante el uso de isoflurano (Butler Schein) y se sacrificaron mediante descolocación cervical. Los bazos se retiraron y se analizó una suspensión celular mediante citometría de flujo para linfocitos B B220+. Se determinaron las cantidades promedio para cada grupo de tratamiento y se comparó la importancia con el control calculado mediante el uso de ANOVA unidireccional mediante la prueba de comparación múltiple de Dunnett. Los resultados se muestran en la Figura 5.

Resultados

20

Los resultados muestran que el tratamiento durante 14 días con el Compuesto B fue capaz de inhibir significativamente la expansión de linfocitos B B220+ inducida por el ADN de minicírculos de BAFF humano

Ejemplo 20. Inhibición de la liberación de IL17A e IL22 de
ratón inducida por IL23 humana en ratones C57/Bl6

Materiales y métodos

5

En resumen, se dividieron aleatoriamente ratones hembra C57BL/6 (de 7-10 semanas, Charles River) en 8 grupos, 8 animales/grupo y se les proporcionó una inyección intraperitoneal de 100 µl de cada amortiguador de citrato (NaCitrato 20 mM, NaCl 115 mM, pH 6.0) o compuestos de prueba a una dosis molar equivalente de 1.3, 0.4 y 0.13 mg/kg con respecto a 1, 3 y 0.1 mg/kg, respectivamente.

Una hora después de que los ratones con dosificación del compuesto de prueba se anestesiaran mediante isoflurano (Butler Schain) y se les proporcionara una inyección intradérmica de 20µl de BSA al 0.1 % (Sigma) control o 15 µg/ml (0.3 µg) de rhIL23 (generada en el laboratorio) diluida en solución salina (Invitrogen) en ambas orejas. Los estímulos intradérmicos se repitieron diariamente durante 2 días consecutivos. Veinticuatro horas después del segundo estímulo, los ratones fueron sacrificados mediante dislocación cervical y se extirparon las orejas. El tejido de las orejas se homogeneizó en 1 ml de amortiguador de homogeneización (HBSS (Gibco);

Triton X-100 al 0.4 % (Sigma); 1X inhibidor de la proteasa SigmaFast (Sigma)) mediante el uso de un homogeneizador Fast-Prep 24 de MP Biomedicals. Las muestras homogeneizadas se centrifugaron a 4C durante 10 min y se recolectó el sobrenadante. Los sobrenadantes se sometió a ensayo para determinar la presencia de IL17A e IL22 de ratón, mediante el uso de inmunoensayos Quantikine® de IL-17 de ratón e IL-22 de ratón de acuerdo con las instrucciones del fabricante (R&D Systems). Se determinaron los valores en pg/ml de la citocina interpolada para cada muestra. Se determinaron los niveles de pg/ml promedio para cada grupo de tratamiento y se comparó la importancia con el control calculado mediante el uso de ANOVA unidireccional mediante la prueba de comparación múltiple de Dunnett.

15

Resultados

Los resultados en la Figura 6 muestran que el tratamiento con una dosis intraperitoneal única del Compuesto B fue capaz de inhibir significativamente la liberación de IL17 e IL22 de ratón en la piel inducida con dos inyecciones intradérmicas consecutivas diarias de IL23 humana recombinante.

20

SECUENCIAS

SEQ ID NO	Secuencia
1	QVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFNNNAINWVRQAPGQGLEWMG GIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASMELSSLRSED TAVYYCAR SRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSS
2	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPV LVIYG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVL
3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIG YIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAI PDRSGYAWFIYWGGTTLVTVSS
4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIK
5	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPV LVIYG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGTTLVTVSSLGGGSGAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK

	SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
6	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFNNN AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSEDVAVYYCARSRDLLFPFHALSPWGRGTMVTVSSLGGGSGR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
7	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFNNN AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSEDVAVYYCARSRDLLFPFHALSPWGRGTMVTVSSLGGGSGA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKHTCTPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
8	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYIG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGTGLVTVSSLGGGSGRTV

	AAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
9	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPV LVIYG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKY NENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSGGCGGGEVA ACEKEVA ALEKEVA ALEKEVA ALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG
10	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRV SCKASGGTFNNN AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSED TAVYYCARSRDLLLPFH HALSPWGRGTMVTVSSGGCGGGK VAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
11	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRV SCKASGGTFNNN AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSED TAVYYCARSRDLLLPFH HALSPWGRGTMVTVSSGGCGGGE VAACEKEVA ALEKEVA ALEKEVA ALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAG

	GPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
12	SSELTDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYIG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LVT VSSGGCGGGKVA ACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
13	SSELTDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYIG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LVT VSSLGGGSGAST KGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVSMHEALHNHYTQKSLSLSLG
14	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFNNN

	AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSED TAVYYCARSDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSSLGGGSGR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
15	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCASGGTFNNN AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSED TAVYYCARSDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSSLGGGSGA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE SKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
16	SSELTDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYICSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGT LVTVSSLGGGSGRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
17	SSELTDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYG

	KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSEDNAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLVTVSSGGCGGGEVA ACEKEVAALKEVAALKEVAALKEKESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFL FPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSLG
18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFNNN AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSEDNAVYYCARSRDLLLPFHHALSPWGRGTMVTVSSGGCGGGK VAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
19	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFNNN AINWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASM ELSSLRSEDNAVYYCARSRDLLLPFHHALSPWGRGTMVTVSSGGCGGGGE VAACEKEVAALKEKEVAALKEVAALKEKESKYGPCPPCPAPEFLGGPSV FLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHY

	TQKSLSLSLG
20	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYG KNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGNHWV FGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTD QTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LVT VSSGGCGGGKVA ACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
21	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCASGAFDYWGQGT TTVTVSS LGGGSGASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVFPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
22	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVYYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LVT VSS LGGGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF

	NRGEC
23	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCASGAFDYWGQGTTVTVSSGGCGGGEVAACEKEVA ALEKEVAALEKEVAALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSL SLSPG
24	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISLQPEDFVTTYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
25	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCASGAFDYWGQGTTVTVSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW

	YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
26	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRS GTEFTLTIS SLQPEDFV TYYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKY NENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LTVTVSS LGGGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
27	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSR TDFTLTIS SLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGT TDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCASGAFDYWGQGT TTVTVSS GCGGGGEVAACEKEVA ALEKEVA ALEKEVA ALEKESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGL G
28	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRS GTEFTLTIS SLQPEDFV TYYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDQ

	TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LVT VSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
29	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSR TDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGT TDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCASGAFDYWGQGT TVTVSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
30	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQDIGNRLN WYQQKPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFV TYYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LVT VSSLGGGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
31	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSR TDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAPDHIFSIH

	WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCASGAFDYWGQGT TTVTVSSGGCGGGEVAACEKEVA ALEKEVA ALEKEVA ALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG
32	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLN WYQQKPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFV TYYCLQYASSPFTF GQG TKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKY NENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LVTVSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
33	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCASGAFDYWGQGT TTVTVSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKR VESKYGPCCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

34	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGNRLNHWYQQKPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTTYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSLGSGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
35	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCASGAFDYWGQGTTTVTVSSGGCGGGEVAACEKEVA ALEKEVAALEKEVAALEKESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSL G
36	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGNRLNHWYQQKPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTTYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
37	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY

	WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQRPQGQLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYM ELSRRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGSTVTVSSLGGGSGAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
38	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFADYYCLQYRSYPRTF GGGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGT LVT VSSLGGGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
39	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQRPQGQLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYM ELSRRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGSTVTVSSGGCGGGEV AACEKEVA ALEKEVA ALEKEVA ALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH

	NHYTQKSLSLSPG
40	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFADYYCLQYRSYPRTF GGGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTILTVSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
41	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQRPQGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGAS TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG
42	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFADYYCLQYRSYPRTF GGGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTILTVSSLGGGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
43	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQRPQGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYM

	ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSGGCGGGEV AACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEKESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVF LFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLG
44	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYCLQYRSYPRTF GGGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGT LVT VSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
45	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESRVMTMTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFFAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
46	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY

	SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYRSYPRTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSSLGGGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
47	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSGGCGGGEV AACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
48	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYRSYPRTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
49	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF

	GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESRVMTMRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSTVTVSSSLGGGSGAS TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAYLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSLG
50	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQYRSYPRTF GQGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGT LVTVSSSLGGGSGRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
51	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESRVMTMRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSTVTVSSGGCGGGEV AACEKEVA ALEKEVA ALEKEVA ALEKESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVF LFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA

	KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLG
52	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYRSYPRTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSGGCGGGKVAA CKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
53	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGSGSGASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
54	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSIIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGT TDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDVAVYYCASGAFDYWGQGT TTVTVSSLGSGSGRTVAAPSVFI

	FPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
55	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTTYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGQTLTVTVSSLGGGSGASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG
56	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCASGAFDYWGQGTITVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
57	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGNRLNWIYQQKPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTTYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGQTLTVTVSSLGGGSGASTK

	GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
58	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSIIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCASGAFDYWGQGTITVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLNIFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
59	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLNWIYQQKPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISLQPEDFVITYYCLQYASSPFTF GQGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSLGGGSGASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

60	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSIH WMQWVRQAPGQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCASGAFDYWGQGTTVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
61	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFADYYCLQYRSYPRTF GGGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTLLTVSSLGGGSGASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
62	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQRPQGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK

	SFNRGEC
63	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFADYYCLQYRSYPRTF GGGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSLGGGSGASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQRPQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
65	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQYRSYPRTF GQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSLGGGSGASTK

	GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
66	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSTVTVSSLGGGSGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
67	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQYRSYPRTF GQGTKLEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTTLTVTVSSLGGGSGASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ

	EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
68	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIY WASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTF GSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTF FIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
69	GGGSGGGG
70	LGGGSG
71	FNRGEC
72	VEPKSC
73	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
74	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK

	SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
75	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
76	EPKSCDKTHTCPPCP
77	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
78	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
79	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

80	MDDSTEREQSRLTSCCLKREEMKLKECVSILPRKESPSVRSSKDGLLA ATLLLALLSCCLTVVSFYQVAALQGDLASLRAELQGHHAEKLPAGAGAP KAGLEEAPAVTAGLKIFEPPAPGEGNSSQNSRNKRAVQGPEETVTQDCL QLIADSETPTIQKGSYTFVPWLLSFKRGSAL EEKENKILVKETGYFFIY GQVLYTDKTYAMGHLIQRKKVHVFGDELSLVTLFRCIQNMPETLPNNSC YSAGIAKLEEGDELQLAIPRENAQISLDGDVTFFGALKLL
81	MLGSRVMLLLLLLPWTAQGRAVPGGSSPAWTQCQQLSQKLCTLAWSAHP LVGHMDLREEGDEETTNDVPHIQCGDGDPOGLRDNSQFCLQRIHQGLI FYEKLLGSDIFTGEPSELLPDSPVGQLHASLLGLSQLLQPEGHHWETQQI PSLSPSQPWQRLLLRFKILRSLQAFVAVAAARVFAHGAATLSP
82	GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK
83	GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
84	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMG EIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAS GAFDYWGQGTTTVTVSS
85	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGNRLSWLQQE PGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTTYCLQYASSPFTF GQGTKLEIK
86	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMG EIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAS GAFDYWGQGTTTVTVSS
87	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDIGNRLN WYQQKPGKAPKRLIY ATSSLD SGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTTYCLQYASSPFTF GQGTKLEIK
88	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFSTFFIHWVRQRP GQGLEWIG RIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYMELSR LRSDDTAVYYCAR

	GEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSS
89	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYCLQYRSYPRTF GGGTKLEIK
90	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQAPGQGLEWIG RIDPNSGATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAR GEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSS
91	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGKAPKLLIY SKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYRSYPRTF GQGTKLEIK
92	GGTFNNNAIN
93	GIIPMFGTAKYSQNFQG
94	SRDLLLFPHHALSP
95	QGDSLRSYYAS
96	GKNNRPS
97	SSRDSSGNHWV
98	GYTFTDQTIH
99	YIYPRDDSPKYNENFKG
100	PDRSGYAWFIY
101	KASRDVAIAVA
102	WASTRHT
103	HQYSSYPFT
104	DHIFSIHWMQ
105	EIFPGSGTTDYNEKFKG
106	GAFDY
107	RASQDIGNRLS

108	ATSSLDS
109	LQYASSPFT
110	DHIFSIHWMQ
111	EIFPGSGTTDYNEKFKG
112	GAFDY
113	RASQDIGNRLN
114	ATSSLDS
115	GYSFSTFFIH
116	RIDPNSGATKYNEKFES
117	GEDLLIRTDALDY
118	KASQNAGIDVA
119	SKSNRYT
120	LQYRSYPRT
121	GYSFSTFFIH
122	GRIDPNSGATKYNEKFES
123	GEDLLIRTDALDY
124	KASQNAGIDVA
125	SKSNRYT
126	LQYRSYPRT
127	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
128	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV

	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
129	LEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
130	LEPKSSDKTHTCPPCP
131	GCKWDLLIKQWVCDPLGSGSATGGSGSTASSGSGSATHMLPGCKWDLLI KQWVCDPLGGGGGVDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
132	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIG EINHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARG YYDILTGYYYYFDYWGQGTLVTVSS
133	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIY DASNRATGIPARFSGSGSGTDSTLTISILEPEDFAVYYCQQRSNWPRTF GQGTKVEIK
134	ESKYGPPCPPCP
135	GGCGGG
136	LGGCGGGS

Todas las características descritas en la presente memoria descriptiva pueden combinarse en cualquier combinación. Cada
5 característica descrita en la presente memoria descriptiva puede remplazarse con una característica alternativa que cumpla el mismo fin o un fin equivalente o similar. Por lo tanto, a menos que se indique expresamente lo contrario, cada característica descrita es únicamente un ejemplo de una serie
10 genérica de características equivalentes o similares.

A partir de la descripción anterior, un experto en la técnica puede determinar fácilmente las características esenciales de la presente descripción y, sin apartarse del espíritu y alcance
15 de esta, puede realizar diversos cambios y modificaciones en la descripción para adaptarla a diversos usos y condiciones. Por lo tanto, otras modalidades también se encuentran dentro de las reivindicaciones.

La descripción se refiere a compuestos específicos para IL23A
y BAFF, composiciones que comprenden los compuestos y métodos
5 de uso de estos. También se describen ácidos nucleicos, células
y métodos de producción relacionados con los compuestos y las
composiciones.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que comprende un primer polipéptido y un segundo polipéptido, el compuesto se une a una primera proteína objetivo y a una segunda proteína objetivo, en donde cualquiera de dicha primera proteína objetivo es BAFF y dicha segunda proteína objetivo es IL-23A o dicha primera proteína objetivo es IL-23A y dicha segunda proteína objetivo es BAFF, y además en donde:
- (A) dicho primer polipéptido comprende:
- (i) un dominio variable de cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína objetivo;
 - (ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína objetivo; y
 - (iii) una región bisagra, una región constante de cadena pesada 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y
- (B) dicho segundo polipéptido comprende:
- (i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína objetivo;
 - (ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína objetivo;
- donde:
- a) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha primera proteína objetivo;
 - b) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha segunda proteína objetivo; y
- dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y un ácido glutámico en la posición 256, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat; y donde:
- dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:91 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:90; y
- donde además dicho primer polipéptido comprende además un primer enlazador peptídico entre dicho VL1 y dicho VH2 y dicho segundo polipéptido comprende además un segundo enlazador peptídico entre dicho VL2 y dicho VH1, dicho segundo polipéptido comprende además un dominio de región constante de cadena ligera (CL), donde dicha CL y dicha CH1 se asocian entre sí mediante un enlace disulfuro para formar un dominio CL, y dicho primer polipéptido comprende

además un tercer enlazador peptídico entre dicho VH2 y dicha CH1 y dicho segundo polipéptido comprende además un cuarto enlazador peptídico entre dicho VH1 y dicha CL.

- 5 2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho primer enlazador peptídico o dicho segundo enlazador peptídico comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69).
- 10 3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho primer enlazador peptídico y dicho segundo enlazador peptídico comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69).
- 15 4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho tercer enlazador peptídico o dicho cuarto enlazador peptídico comprende la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70).
- 20 5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho tercer enlazador peptídico y dicho cuarto enlazador peptídico comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70).
- 25 6. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en las posiciones 234 y una alanina en la posición 235, numeradas de acuerdo con el índice EU tal como en Kabat.
- 30 7. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la secuencia de aminoácidos de dicha región bisagra, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) o dicha región constante de cadena pesada 3 (CH3) se obtiene a partir de un IgG1 o de un IgG4.
- 35 8. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicha región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76), la secuencia de aminoácidos LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130) o la secuencia de aminoácidos ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134).
9. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicho compuesto comprende dos de dichos primeros polipéptidos y dos

de dichos segundos polipéptidos, donde dichos dos primeros polipéptidos están unidos covalentemente, en donde dicha unión covalente comprende un enlace disulfuro.

5 10. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde

(i) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o

10 (ii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o

(iii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o

15 (iv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52;

20 donde dicho compuesto comprende dos de dichos primeros polipéptidos y dos de dichos segundos polipéptidos, los dichos dos primeros polipéptidos están unidos covalentemente entre sí, en donde la unión covalente comprende un enlace disulfuro y cada uno de dichos primeros polipéptidos está unido covalentemente a uno de dichos segundos polipéptidos, en donde dicha unión covalente comprende un enlace disulfuro.

25 11. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 10, donde dicho compuesto comprende dos de dichos primeros polipéptidos y dos de dichos segundos polipéptidos, donde cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende una CH1, bisagra, una CH2 y una CH3 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende una CL y donde la bisagra, la CH2 y la CH3 de uno de los primeros polipéptidos se asocia a la bisagra, CH2 y la CH3 del otro de los primeros polipéptidos y la CH1 de cada dichos primeros polipéptidos se asocia a la CL de uno de dichos segundos polipéptidos para formar una molécula tetravalente.

35 12. Un compuesto que comprende dos primeros polipéptidos y dos segundos polipéptidos; donde dichos dos primeros polipéptidos están unidos covalentemente entre sí, en el que dicha unión covalente comprende un enlace disulfuro y donde además cada uno de dichos primeros polipéptidos

está unido covalentemente a uno de dichos segundos polipéptidos, en donde dicha unión covalente comprende un enlace disulfuro; el compuesto se une específicamente a una primera proteína objetivo y a una segunda proteína objetivo, en donde cualquiera de dicha primera proteína objetivo es BAFF y dicha segunda proteína objetivo es IL-23A o dicha primera proteína objetivo es IL-23A y dicha segunda proteína objetivo es BAFF, donde cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende:

- (i) un dominio variable de cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína objetivo;
- (ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína objetivo;
- (iii) una región constante de cadena pesada 1 (CH1), una región bisagra, una región constante de cadena pesada 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y

donde cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende:

- (i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína objetivo;
- (ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína objetivo;
- (iii) un dominio de región constante de cadena ligera (CL);

donde la bisagra, la CH2 y la CH3 de uno de los primeros polipéptidos se asocia con la bisagra, CH2 y CH3 del otro de los primeros polipéptidos y la CH1 de cada uno de dichos primeros polipéptidos se asocia con el CL de dichos segundos polipéptidos para formar una molécula tetravalente;

donde

- a) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha primera proteína objetivo;
- b) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha segunda proteína objetivo; y

dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y un ácido glutámico en la posición 256, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat; y donde:

dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:91 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:90.

13. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, donde cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende además un primer enlazador peptídico entre

dicho VL1 y dicho VH2 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende además un segundo enlazador peptídico entre dicho VL2 y dicho VH1.

5 14.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, donde dicho primer enlazador peptídico o dicho segundo enlazador peptídico comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69).

10 15.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, donde dicho primer enlazador peptídico y dicho segundo enlazador peptídico comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGGG (SEQ ID NO:69).

15 16.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, donde cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende además un tercer enlazador peptídico entre dicho VH2 y dicha CH1 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende además un cuarto enlazador peptídico entre dicho VH1 y dicha CL.

20 17.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 16, donde dicho tercer enlazador peptídico o dicho cuarto enlazador peptídico comprende la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70).

25 18.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 16, donde dicho tercer enlazador peptídico y dicho cuarto enlazador peptídico comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO:70).

30 19.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, donde dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en las posiciones 234 y una alanina en la posición 235, numeradas de acuerdo con el índice EU tal como en Kabat.

35 20.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, donde la secuencia de aminoácidos de dicha región bisagra, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) o dicha región constante de cadena pesada 3 (CH3) se obtiene a partir de un IgG1 o de un IgG4.

21.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, donde dicha región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID

NO:76), la secuencia de aminoácidos LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130) o la secuencia de aminoácidos ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134).

22.El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, donde

- 5 (i) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46; o
- 10 (ii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; o
- 15 (iii) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50; o
- 20 (iv) cada uno de dichos primeros polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51 y cada uno de dichos segundos polipéptidos comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52.

23.Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22.

24.Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22.

25.Un vector que comprende un ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 24.

30 26.El vector de acuerdo con la reivindicación 25, que comprende además un promotor unido de manera operativa a dicho ácido nucleico.

27.Una célula recombinante que comprende un ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 24 o un vector de acuerdo con la reivindicación 25 o 26, en donde dicha célula recombinante expresa un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22.

28.Un método *in vitro* para producir un polipéptido de acuerdo con cualquiera de

las reivindicaciones 1 a 22 que comprende obtener una célula recombinante de acuerdo con la reivindicación 27, cultivar dicha célula recombinante bajo condiciones que permitan la expresión de dicho ácido nucleico en dicha célula recombinante y aislar dicho polipéptido.

5

29.El método de acuerdo con la reivindicación 28, que comprende además purificar dicho polipéptido aislado.

30.La célula recombinante de acuerdo con la reivindicación 27, la cual es
10 seleccionada de célula bacteriana, de levadura, de mamífero y de insecto.

31.La célula recombinante de acuerdo con la reivindicación 27, la cual es una célula CHO.