

ANTICUERPOS MONOCLONALES Y MÉTODOS PARA UTILIZAR LOS MISMOS

CAMPO DE LA INVENCION

La invención se relaciona con el campo de la
5 biotecnología y la biomedicina, en particular, con
anticuerpos o fragmentos que se unen al antígeno de los
mismos, así como con el uso de los mismos. De manera más
específica, la presente invención se relaciona con
anticuerpos monoclonales que se unen de manera específica a
10 una familia del receptor de las células T humanas. La
invención también se relaciona con un ácido nucleico que
codifica el anticuerpo o el fragmento que se une al
antígeno del mismo, un vector de expresión, un método para
preparar el anticuerpo, y el uso del anticuerpo en el
15 tratamiento de enfermedades o trastornos asociados con la
familia del receptor de las células T humanas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

En el tratamiento de las enfermedades autoinmunes
20 humanas, el uso de fármacos basados en anticuerpos contra
los mediadores principales del proceso inflamatorio, tales
como el TNF alfa, IL1, IL6, IL17, IL23 (van der Heijde D et
al., Ann Rheum Dis. 2011 Jun; 70(6):905-8, Baeten D, et al,
N Engl J Med. 2015 Dec 24; 373(26):2534-48). Los
25 anticuerpos monoclonales para los complejos del receptor de

CD3 y CD4, que tienen propiedades inmunomoduladoras, están en ensayos clínicos para el tratamiento de las enfermedades autoinmunes, (Kuhn C. and Weiner L., Immunotherapy 2016 Jul; 8(8):889-906; Helling B. et al., Immunology and Cell Biology 2015 Apr; 93(4):396-405; Konig M. et al., Front Immunol 2016 Jan 25; 7:11). Sin embargo, se ha mostrado que el uso de tales fármacos, aunque conduce a una disminución en la inflamación, no detiene el desarrollo de una enfermedad, y no actúan directamente en la causa de la enfermedad, es decir, los linfocitos T autorreactivos (Haroon N et al., Arthritis Rheum. 2013 Oct; 65(10):2645-54., Duarte J. et al., PloS One 2010 May 10; 5(5):e10558; Konig M. et al., Front Immunol 2016 Jan 25; 7:11).

A pesar del éxito de los tratamientos sintomáticos de la espondilitis anquilosante (AS, enfermedad de Bekhterev), utilizando los anticuerpos monoclonales, aún no se ha creado un fármaco efectivo que permita la supresión selectiva y a largo plazo de la respuesta autoinmune, y que detenga la progresión de la AS. Así, es una tarea urgente generar anticuerpos que permitan liberar al organismo de los pacientes con AS de las clonas de linfocitos T autorreactivos, el surgimiento de las cuales se asocia con el desarrollo de la enfermedad.

Se sabe que la interacción entre el receptor de las células T (TCR) que reconoce el antígeno y las

proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, HLA), que son péptidos procesados de las proteínas intracelulares o proteínas de organismos patogénicos en la superficie de las mismas, juegan un papel importante en el surgimiento de las clonas de linfocitos T autorreactivos. Varias enfermedades autoinmunes están asociadas con la presencia de una variante del gen HLA particular en los humanos. Por ejemplo, el alelo HLA-B27 se asocia con la AS, la artritis reactiva y la enfermedad de Crohn. El riesgo de desarrollar enfermedades autoinmunes en portadores de ciertas variantes alélicas de HLA, puede explicarse por la presentación preferencial por estos alelos de ciertos péptidos que son autoantígenos, la respuesta inmune contra los cuales, desencadena el desarrollo de una enfermedad autoinmune. Uno de los posibles mecanismos para el inicio de una reacción autoinmune es la presentación por las moléculas del complejo de histocompatibilidad de los péptidos de las proteínas de origen bacteriano o viral, que son homólogos a los péptidos del propio organismo, que de hecho, puede conducir a una respuesta inmune contra los autoantígenos debidos a la reactividad cruzada.

Como se sabe de la técnica previa, una secuencia del receptor de las células T (TCR) es un marcador que permite identificar una clona de linfocitos T involucrada en la patogénesis de una enfermedad autoinmune.

Estructuralmente, las subunidades de los receptores de las células T son elementos de la superfamilia de la inmunoglobulina, y se forman de varios segmentos del gen. Las regiones variables del TCR forman el sitio que se une al antígeno del TCR. Esto significa que son específicos de la clona, es decir, difieren en los linfocitos T que responden a antígenos distintos.

En términos de la homología del aminoácido de los segmentos variables (V) del gen dentro del dominio variable del TCR, los receptores de las células T se dividen en diferentes familias. De acuerdo con la nomenclatura de IMGT, la cadena beta se distingue en 26 familias distintas, y la cadena alfa se distingue en 41 familias (Turner SJ et al., Nature Reviews Immunology 2006, V.6, 883-894). Para determinar la familia de la cadena del TCR, se utiliza una alineación múltiple de una secuencia de aminoácidos de prueba y las secuencias de la cadena del TCR conocidas, la información de las cuales se resume en la base de datos de IMGT ("El sistema de información internacional de ImMunoGeneTics (*The international ImMunoGeneTics information system*)", Lefranc M-P., Nucl Acids Res 2001; 29:207-209), disponible en la Internet en <http://www.imgt.org>. La alineación múltiple y la determinación de la familia de la cadena del TCR pueden realizarse utilizando el paquete del programa IgBlast.

Se ha descrito una variante de consenso de los TCR autoinmunes en los pacientes con AS, que ha mostrado que está presente en el fluido sinovial y la sangre periférica en pacientes con AS y está ausente a la misma profundidad de análisis en donadores sanos, sin importar su estado del alelo HLA*B27 (Faham M. et al., Arthritis Rheumatol. 2017; 69(4):774-784; Komech E et al. 12th EJI-EFIS Tatra Immunology Conference; 2016 Sep 3-7; Strbske Pleso, Slovakia. Abstract book p. 39). Estos TCR son elementos de la familia TRBV9 (de acuerdo con la nomenclatura de IMGT).

Se ha mostrado que los receptores de las células T que portan las cadenas beta de la familia TRBV9, también están involucrados en el desarrollo de una enfermedad autoinmune tal como la enfermedad celiaca (Petersen J et al., J Immunol. 2015; 194(12): 6112-22). También, se encuentran en la superficie de las células T sometidas a malignización en los linfomas de las células T y las leucemias de las células T, incluyendo el linfoma de las células T causado por el virus de Epstein-Barr (EBV) (Toyabe S et al., Clin Exp Immunol. 2003; 134(1): 92-97).

Los análogos más cercanos de la presente invención son los anticuerpos monoclonales W112 y 2D1 de las regiones de la cadena beta de los dominios variables del receptor de las células T humanas, que pertenecen a las

familias TRBV5-3 TRBV8-1, que se describen en una solicitud de patente (WO9006758), como una herramienta para el diagnóstico y el tratamiento de la artritis reumatoide. Estos anticuerpos monoclonales reconocen entre 0.3 a 5% de los linfocitos T periféricos que portan a TRBV5-3 y 0.5 a 13% de los linfocitos T periféricos que portan a TRBV8-1, respectivamente. Los resultados de muchos estudios que demuestran la implicación de los linfocitos T en la patogénesis de la artritis reumatoide, dan lugar al uso de los anticuerpos monoclonales específicos para las regiones de la cadena beta de los receptores T. En particular, los datos de Brennan et al., Clin Exp Immunol. 1988 Sep; 73(3): 417-423, han demostrado un porcentaje elevado de linfocitos T que portan a TRBV5 y TRBV8 en las muestras sinoviales de pacientes que sufren de artritis reumatoide, en comparación con los donadores sanos.

También, el documento WO9405801, describe anticuerpos monoclonales para el diagnóstico y terapia de la artritis reumatoide, que interactúan con un epitopo de la región variable VB3.1 del receptor de las células T humanas, que interactúa con la subfamilia del TCR V(beta)3.1.

La desventaja principal de los enfoques para tratar la artritis reumatoide descritos en los documentos WO9405801 y WO9006758, es la falta de evidencia convincente

de una conexión entre la patogénesis y una familia particular del segmento variable de la cadena beta.

Los anticuerpos monoclonales que reconocen de manera específica la cadena beta de la 13^a familia del TRC de la rata también se han descrito. Los modelos con animales han demostrado que, con la ayuda de estos anticuerpos, es posible eliminar de manera preventiva una población pequeña de células T, el receptor T de las cuales comprende la cadena beta VB13 (células T VB13+), y se ha mostrado que tal procedimiento protege contra el desarrollo de la diabetes del tipo I en las ratas de una línea propensa a la diabetes del tipo I, y también reduce de manera significativa el riesgo de desarrollo de diabetes inducida por virus (Zhiyun Liu et al., Diabetes. 2012 May; 61(5): 1160-1168.). Al mismo tiempo, la disminución de las células T, el receptor T de las cuales comprende una familia de la cadena beta distinta (VB16), no difiere en los resultados de los grupos de control. Es importante notar que incluso la primera administración de un anticuerpo monoclonal contra VB13, resulta en una disminución del 60% en el número de células T VB13+ en el bazo de la rata.

Todos los análogos descritos no se unen a los TCR que pertenecen a la familia TRBV9, y no son adecuados para tratar la AS y otras enfermedades asociadas con los TCR,

que pertenecen a la familia TRBV9.

Los anticuerpos monoclonales adecuados para la eliminación de las células T que portan los TCR de la familia TRBV9, anticuerpos los cuales pueden utilizarse para tratar la AS y la enfermedad celiaca, no se han descrito.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La invención está dirigida a la creación de anticuerpos, que pueden utilizarse para eliminar las células T que portan los TCR de la familia TRBV9, en particular, para la terapia de la AS, la enfermedad celiaca y las enfermedades malignas de la sangre, la patogénesis de las cuales involucra los TCR de la familia TRBV9.

La presente invención se relaciona con anticuerpos monoclonales y fragmentos que se unen al antígeno de los mismos, que tienen la capacidad para unirse de manera específica a la región de la cadena beta de la familia TRBV9 del receptor T humano. Los anticuerpos de acuerdo con la invención pueden utilizarse como una medicina para tratar enfermedades autoinmunes y oncológicas, la patogénesis de las cuales involucra los TCR que pertenecen a la familia TRBV9, por ejemplo, la AS, la enfermedad celiaca y algunos linfomas de las células T y leucemias de las células T.

Los anticuerpos y fragmentos que se unen al antígeno de la presente invención, se caracterizan porque

1) el dominio variable de la cadena pesada (VH) del mismo, comprende 3 regiones hipervariables, HCDR1, HCDR2 y HCDR3, en donde

la HCDR 1 (de acuerdo con el esquema de numeración de Kabat), tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1;

la HCDR 2 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2;

la HCDR 3 tiene la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste de la SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6;

2) el dominio variable de la cadena ligera (VL) del mismo, comprende 3 regiones hipervariables, LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde:

la LCDR 1 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7;

la LCDR 2 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8;

la LCDR 3 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.

A menos que se indique de manera específica de otra manera, el esquema de numeración de Kabat bien conocido se utiliza aquí posteriormente, para determinar

las CDR de los anticuerpos.

Los anticuerpos de acuerdo con la invención pueden ser anticuerpos quiméricos, humanizados o humanos. En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente
5 invención contienen las regiones constantes y componentes estructurales similares a los de los humanos, pero tienen un dominio variable similar al de la rata.

En algunas modalidades, un dominio variable de la cadena ligera del anticuerpo tiene la secuencia de
10 aminoácidos de la SEQ ID NO: 11, y el dominio variable de la cadena pesada del anticuerpo del sujeto tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste de la SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19.

15 También se proporciona un anticuerpo, la secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena ligera del cual, es sustancialmente similar (por ejemplo, al menos 90% idéntica) a la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 11.

20 También se proporciona un anticuerpo, la secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada del cual, es sustancialmente similar (por ejemplo, al menos 90% idéntica) a una secuencia seleccionada del grupo que consiste de la SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ
25 ID NO: 17, SEQ ID NO: 19.

En algunas modalidades, un anticuerpo de la invención comprende una cadena ligera, la secuencia de aminoácidos de la cual, es sustancialmente similar a la SEQ ID NO: 29, y una cadena pesada, la secuencia de aminoácidos de la cual es sustancialmente similar a aquélla seleccionada del grupo que consiste de la SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27.

En algunas modalidades, los anticuerpos monoclonales de la invención son anticuerpos de IgG humana de longitud completa, por ejemplo, IgG1 o IgG2 o IgG3 o IgG4.

También se proporcionan ácidos nucleicos que codifican los dominios variables de la cadena pesada y ligera de un anticuerpo de acuerdo con la invención, ácidos nucleicos que codifican las cadenas pesadas y ligeras de los anticuerpos de acuerdo con la invención, y fragmentos funcionales de los mismos.

También se proporcionan casetes de expresión y vectores de expresión que incluyen un ácido nucleico de la presente invención, y elementos regulatorios necesarios para la expresión del ácido nucleico en una célula hospedera seleccionada. El vector o el casete de expresión puede estar presente en la célula hospedera como un elemento extracromosomal o integrado en el genoma de la célula, como un resultado de la introducción (mediante

transfección) del casete o vector de expresión en la célula.

Además, se proporcionan células y líneas celulares estables que incluyen los ácidos nucleicos, vectores o casetes de expresión de la presente invención, y
5 métodos para la preparación de los mismos.

También se proporciona un método para producir el anticuerpo o fragmento que se une al antígeno del mismo anterior, que comprende cultivar la célula hospedera
10 anterior en un medio de cultivo, bajo condiciones que aseguren la producción del anticuerpo. En algunas modalidades, el método incluye el aislamiento y la purificación subsiguientes del anticuerpo resultante.

También se proporciona una composición
15 farmacéutica para prevenir o tratar una enfermedad o trastorno mediado por la región de la cadena beta de la familia TRBV9 del receptor T humano, que comprende el anticuerpo o fragmento que se une al antígeno del mismo anterior, en combinación con uno o más excipientes
20 farmacéuticamente aceptables.

En una de las modalidades, la composición farmacéutica se pretende para evitar o tratar una enfermedad o trastorno seleccionado del grupo de: espondilitis anquilosante, enfermedad celiaca, leucemia de
25 las células T, linfoma de las células T.

También se proporciona una combinación farmacéutica para prevenir o tratar una enfermedad o trastorno mediado por el receptor de las células T humanas que porta la cadena beta de la familia TRBV9, que comprende el anticuerpo o fragmento que se une al antígeno del mismo anterior, y al menos otro compuesto terapéuticamente activo.

En una de las modalidades, la combinación farmacéutica se pretende para evitar o tratar una enfermedad o trastorno seleccionado del grupo de: espondilitis anquilosante, enfermedad celiaca, leucemia de las células T, linfoma de las células T.

En una modalidad, la combinación farmacéutica comprende otro compuesto terapéuticamente activo que se selecciona de una molécula pequeña, anticuerpo u hormonas de esteroides, tales como corticoesteroides.

También se proporciona un método para inhibir la actividad biológica del receptor de las células T, la cadena beta del cual pertenece a la familia TRBV9, en un sujeto en necesidad de tal inhibición, que comprende administrar al sujeto, una cantidad efectiva del anticuerpo o fragmento que se une al antígeno del mismo, mencionado anteriormente.

También se proporciona un método para tratar una enfermedad o trastorno mediado por el receptor de las

células T humanas que porta la cadena beta de la familia TRBV9, que comprende administrar a un sujeto en necesidad de tal tratamiento, el anticuerpo o fragmento que se une al antígeno del mismo anterior, o la composición farmacéutica, en una cantidad terapéuticamente efectiva.

En una de las modalidades del método para tratar una enfermedad o trastorno, la enfermedad o trastorno se selecciona del grupo de: espondilitis anquilosante, enfermedad celiaca, leucemia de las células T, linfoma de las células T.

También se proporciona el uso del anticuerpo o fragmento que se une al antígeno del mismo mencionado anteriormente o la composición farmacéutica mencionada anteriormente, para tratar en un sujeto en necesidad de tal tratamiento, una enfermedad o trastorno mediado por el receptor de las células T humanas que porta la cadena beta de la familia TRBV9.

En una de las modalidades del uso, la enfermedad se selecciona del grupo de: espondilitis anquilosante, enfermedad celiaca, leucemia de las células T, linfoma de las células T.

El resultado técnico de la presente invención es generar anticuerpos novedosos, que se unan de manera específica a los TCR, la cadena beta de los cuales pertenece a la familia TRBV9, y puedan utilizarse para

tratar enfermedades autoinmunes y oncológicas, la patogénesis de las cuales involucra los TCR, la cadena beta de los cuales pertenece a la familia TRBV9. Además, el resultado técnico es incrementar la efectividad del tratamiento de la AS y/o la enfermedad celiaca, incremento el cual se proporciona produciendo anticuerpos capaces de actuar directamente en los linfocitos T autoinmunes, y lograr una remisión prolongada de la AS.

10

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las Figuras 1-4 muestran histogramas de dos parámetros de la distribución de las células de la fracción de la sangre mononuclear utilizando el anticuerpo monoclonal anti-CD3 (eje de las ordenadas), marcado con eFluor 405 y los anticuerpos monoclonales contra TRBV9 (eje de las abscisas), marcados con FITC: anti-TRBV9-1 (Figura 1), anti-TRBV9-2 (Figura 2), anti-TRBV9-3 (Figura 3), anti-TRBV9-4 (Figura 4). Cada variante del anticuerpo monoclonal anti-TRBV9 se utilizó en dos concentraciones: 270 ng (gráfica superior) o 27 ng (gráfica inferior) por prueba. El rectángulo pequeño denota la población específica de CD3+TRBV9+.

La Figura 5 muestra histogramas de dos parámetros de la distribución de las células de la fracción de la sangre mononuclear utilizando un anticuerpo monoclonal

anti-CD3 (eje de las ordenadas) marcado con eFluor 405 y anticuerpos monoclonales contra TRBV9 (eje de las abscisas) marcado con FITC, después de la prueba de la citotoxicidad: incubación con anti-TRBV9-2 (prueba) y Remicade (control).

5

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con anticuerpos monoclonales aislados y fragmentos funcionales de los mismos, que tienen la capacidad para unirse de manera específica a la región de la cadena beta de la familia TRBV9 del receptor T humano. También se proporcionan ácidos nucleicos que codifican los anticuerpos y fragmentos de los mismos de la invención, casetes de expresión y vectores de expresión que incluyen un ácido nucleico de la presente invención y elementos regulatorios necesarios para la expresión del ácido nucleico en una célula hospedera seleccionada. Además, se proporcionan células y líneas celulares estables que incluyen los ácidos nucleicos, vectores o casetes de expresión de la presente invención. También se proporciona un método para producir un anticuerpo monoclonal o un fragmento funcional del mismo, una composición farmacéutica y una combinación farmacéutica que comprenden una cantidad efectiva, un anticuerpo de la presente invención en combinación con uno o más excipientes, diluyentes o portadores

farmacéuticamente aceptables, y métodos para el diagnóstico y la terapia de la AS y otras enfermedades, utilizando los anticuerpos de la presente invención.

5

Definiciones

La invención se entenderá más fácilmente con la definición de algunos términos primero.

Se entenderá que los materiales y métodos proporcionados en el presente documento, no están limitados a las composiciones y pasos del método particulares, puesto que éstos pueden variar. Deberá notarse que como se utiliza en el presente documento y en las reivindicaciones anexas, las formas en singular incluyen la referencia en plural correspondiente a menos que el contexto lo dicte claramente de otra manera.

El "receptor de las células T" humanas, también referido como "TCR", "receptor T", es un complejo heterodimérico de proteínas encontrado en la superficie de un linfocito T. Este receptor está presente sólo en los linfocitos T. La función principal del TCR es reconocer de manera específica los antígenos procesados unidos a las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA).

El TCR humano consiste de dos subunidades, cadenas α y beta, o cadenas γ y δ , conectadas a través de un enlace de disulfuro y acopladas en la membrana celular.

Cada una de las cadenas de TCR tiene un dominio variable (V) N terminal, un dominio de conexión, y un dominio constante (C) conectado a un dominio transmembranal que ancla el receptor en la membrana del plasma del linfocito T. La longitud del dominio constante de las cadenas alfa y beta es de 91 y 129 residuos de aminoácidos, respectivamente. La longitud del dominio de conexión y transmembranal de la cadena alfa es 30 y 17 residuos de aminoácidos (AAR), y aquélla de la cadena beta es de 21 y 22 AAR. La longitud de los dominios variables de los receptores T varía de 104 a 125 AAR.

Una fracción pequeña de linfocitos T tiene los receptores del tipo γ/δ . Están colocados de manera similar a los receptores α/β , pero difieren en su estructura primaria, y tienen varias características funcionales. Exhiben una variabilidad mucho más baja (especificidad de la clona limitada), reconocen antígenos en el complejo con moléculas que presentan el antígeno "no clásicas" (no son MHC), o incluso antígenos libres.

El receptor T reacciona con el complejo de MHC/antígeno vía seis regiones que determinan la complementariedad (CDR) del mismo: tres regiones de la cadena alfa y tres regiones de la cadena beta. Estas CDR son regiones hipervariables, las asas de los dominios variables del receptor de las células T, Valfa y Vbeta.

Los términos "TRBV9" o "familia TRBV9", se refieren a la novena familia de las cadenas beta de los receptores de las células T, distinguidas de acuerdo con la nomenclatura de IMGT, que está caracterizada porque la
5 secuencia de aminoácidos del dominio variable de las mismas comprende motivos únicos de la CDR1 (la secuencia de aminoácidos es S-G-D-L-S) y la CDR2 (la secuencia de aminoácidos es Y-Y-N-G-E-E). El término "TCR de la familia TRBV9" se refiere a un receptor de las células T, la cadena
10 beta del cual pertenece a la familia TRBV9.

El término "patológico" con relación a los linfocitos T o TCR, significa que tal TCR o un linfocito T que porta el TCR, está asociado con una enfermedad o patología y/o causa una enfermedad y/o contribuye al
15 desarrollo de una enfermedad.

El término "autoinmune" con relación a un TCR, significa que tal TCR está involucrado en el desarrollo de una enfermedad autoinmune.

El término "anticuerpo" como se utiliza en el presente documento, pretende referirse a una molécula de
20 inmunoglobulina que consiste de cuatro cadenas polipeptídicas (dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L)), enlazadas por enlaces de disulfuro. Las cadenas ligeras se clasifican como kappa o lambda. Las
25 cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o

épsilon; determinan el isotipo del anticuerpo tal como IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente, y varias de ellas pueden dividirse adicionalmente en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2. Cada tipo
5 de cadena pesada está caracterizado por una región constante específica.

Cada cadena pesada comprende una región variable de la cadena pesada (abreviada en el presente documento como HCVR o VH), y una región constante de la cadena
10 pesada. La región constante de la cadena pesada comprende tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera comprende una región variable de la cadena ligera (abreviado en el presente documento como LCVR o VL), y una región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena
15 ligera comprende un dominio, CL. Las regiones VH y VL pueden subdividirse además, en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones que determinan la complementariedad (CDR), rodeadas por regiones que están más conservadas, denominadas regiones del marco (FR). Cada
20 VH y VL está compuesta de tres CDR y cuatro FR, colocadas del término amino al término carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

En la presente solicitud, 3 CDR de la cadena pesada son referidas como "CDRH1, CDRH2 y CDRH3", mientras
25 que 3 CDR de la cadena ligera son referidas como "CDRL1,

CDRL2 y CDRL3". Las CDR contienen la mayoría de los residuos que interactúan de manera específica con el antígeno. Los residuos amino de la CDR dentro de las HCVR y LCVR de los anticuerpos de acuerdo con la presente invención, se numeran y colocan en cumplimiento con el esquema de numeración de Kabat bien conocido, a menos que se indique de otra manera. La presente solicitud incluye los códigos de letras convencionales para los aminoácidos, a menos que se indique de otra manera.

Los términos "anticuerpo anti-TRBV9", "anticuerpo para TRBV9", "anticuerpo que se une de manera específica a la cadena beta de la familia TRBV9" y "anticuerpo contra la cadena beta de la familia TRBV9", son intercambiables en el contexto de la presente solicitud, y se relaciona con un anticuerpo que se une de manera específica al epitopo de la cadena beta de la familia TRBV9 del receptor de las células T humanas.

Los términos "anticuerpo" y "anticuerpo monoclonal" para los propósitos de la presente solicitud, se refieren a un anticuerpo monoclonal contra el TCR de la familia TRBV9. Como se utiliza en el presente documento, "anticuerpo monoclonal" se relaciona con un anticuerpo de roedores, primates o la familia *Camelidae*, de manera preferida a un anticuerpo de ratón, macaco, camello o llama, anticuerpo quimérico, anticuerpo humanizado o

anticuerpo completamente humano, a menos que se indique de otra manera.

Las regiones variables de cada par de cadenas ligeras/pesadas forman los sitios que se unen al antígeno del anticuerpo. Como se utiliza en esta solicitud, una
5 "porción que se une al antígeno", o "región que se une al antígeno", o "dominio que se une al antígeno" o "sitio que se une al antígeno", se relacionan de manera intercambiable con tal porción de una molécula del anticuerpo, que
10 comprende los residuos de aminoácidos que interactúan con el antígeno y proporcionan al anticuerpo la especificidad y afinidad con relación al antígeno. Esta porción del anticuerpo incluye los residuos de aminoácidos del "marco", necesarios para mantener la conformación apropiada de los
15 residuos que se unen al antígeno.

El término "anticuerpo humano", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un anticuerpo, en el cual las secuencias de los dominios variables y constantes se derivan de las secuencias humanas. Los anticuerpos
20 humanos de acuerdo con la invención, pueden incluir residuos de aminoácidos que no son típicos del humano (por ejemplo, mutaciones introducidas mediante mutagénesis no dirigida o específica del sitio *in vitro* o mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en la CDR, y
25 particularmente, en la CDR3.

El término "humanizado", cuando se utiliza con referencia a los anticuerpos, se utiliza para referirse a anticuerpos que están caracterizados por la presencia de regiones constantes y componentes estructurales similares a los de los humanos, pero que tienen regiones que determinan la complementariedad (CDR) que son típicas de las inmunoglobulinas de otro origen, o de los fragmentos correspondientes de anticuerpos modificados.

El término "quimérico" con referencia a los anticuerpos de la presente invención, se utiliza para referirse a los anticuerpos que están caracterizados por las regiones constantes similares a las humanas, pero que tienen regiones variables de otro origen. En tales anticuerpos, los dominios variables de las cadenas ligeras y/o pesadas de origen no humano (por ejemplo, de origen de rata), se enlazan de manera operativa a los dominios constantes de las cadenas correspondientes de origen humano.

El término "enlazado de manera operativa" o lo similar, cuando se utiliza para describir anticuerpos, se refiere a secuencias polipeptídicas que se colocan en una relación física (covalente, a menos que se indique de otra manera) y funcional unas con respecto a otras. En las modalidades más preferidas, las funciones de los componentes polipeptídicos de la molécula quimérica están

sin cambio en comparación con las propiedades funcionales de los componentes polipeptídicos aislados. El término "enlazado de manera operativa" o lo similar, cuando se utiliza para describir ácidos nucleicos, significa que los ácidos nucleicos están enlazados de manera covalente, de manera que ningún desplazamiento del marco de lectura y codones de paro están presentes en los puntos en donde están enlazados. Como será obvio para aquellos con experiencia en la técnica, las secuencias nucleotídicas que codifican una proteína quimérica que comprende componentes "enlazados de manera operativa" (proteínas, polipéptidos, secuencias enlazantes, dominios de la proteína, etc.), consisten de fragmentos que codifican los componentes, en donde los fragmentos están enlazados de manera covalente, de manera que una proteína quimérica de longitud completa, por ejemplo, un anticuerpo quimérico de acuerdo con la invención, se produce durante la traducción y transcripción de la secuencia nucleotídica.

Como se utiliza en el presente documento, el término "aislada" o "derivada", significa una molécula o una célula que está en un medio diferente a aquél en el cual la molécula o la célula existe en la naturaleza.

En las modalidades preferidas, los anticuerpos de la presente invención son recombinantes, es decir, se generan utilizando la técnica de ADN recombinante. El

término "anticuerpo recombinante", como se utiliza en el presente documento, incluye todos los anticuerpos que se preparan, expresan, crean o aíslan por medios recombinantes, tales como los anticuerpos expresados utilizando un vector de expresión recombinante introducido en una célula hospedera, anticuerpos aislados de una biblioteca de anticuerpos humanos recombinantes, combinatorios, anticuerpos aislados de un animal que es transgénico para los genes de la inmunoglobulina humana (véase, por ejemplo, Taylor L. D. et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295). En algunas modalidades, los anticuerpos humanos recombinantes se someten a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se utiliza un animal transgénico para las secuencias de la Ig humana, mutagénesis somática *in vivo*), y así, las secuencias de aminoácidos de las regiones VH y VL de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, aunque se derivan de y se relacionan con las secuencias VH y VL de la línea germinal, pueden no existir naturalmente dentro del repertorio de la línea germinal del anticuerpo humano *in vivo*.

El término "se une de manera específica", como se utiliza en el presente documento, pretende referirse a la situación en la cual un elemento de un par de unión específico no se une de manera significativa a una molécula aparte de los compañeros de unión específicos de la misma.

El término también es aplicable en donde, por ejemplo, un dominio que se une al antígeno de un anticuerpo de la invención, es específico para un epitopo particular que es portado por varios antígenos; en este caso, el anticuerpo específico que comprende el dominio que se une al antígeno será capaz de unirse de manera específica a varios antígenos que portan el epitopo. En consecuencia, el anticuerpo monoclonal de la invención, se une de manera específica al epitopo de la cadena beta de la familia TRBV9 del receptor de las células T humanas, en donde no se une de manera específica a las cadenas beta del TCR de otras familias, y las cadenas alfa del TCR.

El término "epitopo" se refiere a aquella porción de una molécula, capaz de reconocerse por, y unirse por un anticuerpo en una o más de las regiones que se unen al antígeno del anticuerpo. Los epitopos consisten con frecuencia, de una agrupación de moléculas con superficie químicamente activa tales como aminoácidos o cadenas laterales del azúcar, y tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas.

Como se utiliza en esta solicitud, el término "epitopo", *inter alia*, se refiere a un fragmento polipeptídico, que tiene actividad antigénica y/o inmunogénica en un animal, de manera preferida, en un

mamífero, por ejemplo, un ratón, una rata o un humano. El término "epitopo antigénico" como se utiliza en el presente documento, es un fragmento polipeptídico que puede unirse de manera específica al anticuerpo, y puede detectarse mediante cualquier técnica bien conocida de la técnica previa, por ejemplo, mediante un inmunoensayo estándar. Los epitopos antigénicos no son necesariamente inmunogénicos, sin embargo, pueden ser inmunogénicos. "Epitopo inmunogénico" como se utiliza en el presente documento, se define como un fragmento polipeptídico que evoca una respuesta del anticuerpo en un animal, como se determina mediante cualquier método conocido de la técnica previa. "Epitopo no lineal" o "epitopo conformacional", comprende polipéptidos (o aminoácidos) no adyacentes, dentro de una proteína del antígeno que se une a un anticuerpo específico del epitopo.

El término "propiedad biológica" o "característica biológica", o los términos "actividad" o "bioactividad", con referencia a un anticuerpo o fragmento funcional del mismo de la presente invención, se utiliza de manera intercambiable en esta solicitud e incluye, de manera no exclusiva, afinidad y especificidad del epitopo/antígeno, capacidad para neutralizar o antagonizar la actividad del TCR que incluye una cadena beta que pertenece a la familia TRBV9.

Otras propiedades o características biológicas identificables del anticuerpo incluyen, por ejemplo, reactividad cruzada (es decir, con homólogos no humanos de un péptido objetivo, o con otras proteínas o tejidos, generalmente), y capacidad para conservar altos niveles de expresión en la proteína en las células de mamífero. Las propiedades o características mencionadas anteriormente pueden observarse, medirse y/o valorarse utilizando técnicas reconocidas en el campo, incluyendo, de manera no exclusiva, ELISA, ELISA competitivo, análisis con resonancia plasmónica de superficie KINEXA, ensayo de inhibición *in vitro* o *in vivo* sin limitación, ensayos de unión al receptor, ensayos de producción y/o secreción de citocinas o el factor de crecimiento, y transducción de la señal e inmunohistoquímica de las secciones de tejido obtenidas de varias fuentes, incluyendo humanos, primates o cualquier otra fuente.

Los términos "inhibe" o "neutraliza", como se utilizan en el presente documento con respecto a la actividad de un anticuerpo de la invención, se refiere a la capacidad para antagonizar, prohibir, evitar, restringir, ralentizar, interrumpir, eliminar, detener, reducir sustancialmente, por ejemplo, la progresión o severidad de lo que se está inhibiendo, incluyendo, de manera no exclusiva, la actividad biológica del anticuerpo, o

propiedad, enfermedad o condición.

Como se utiliza en el presente documento, el término "mutante" o "variante", se refiere a un anticuerpo descrito en la presente invención, en el cual uno o más aminoácidos se agregan y/o sustituyen y/o suprimen y/o insertan en el término N y/o el término C y/o dentro de las secuencias de aminoácidos nativas de los anticuerpos de la presente invención, o fragmentos de los mismos. Como se utiliza en el presente documento, el término "mutante" también se refiere a una molécula de ácido nucleico que codifica una proteína mutante. Además, el término "mutante" se refiere a cualquier variante que sea más corta o más larga que la proteína o ácido nucleico.

El término "homología" se utiliza para describir la relación de las secuencias nucleotídicas o de aminoácidos con otras secuencias nucleotídicas o de aminoácidos, que se determina mediante el grado de identidad y/o similitud entre las secuencias siendo comparadas.

Como se utiliza en el presente documento, una secuencia de aminoácidos o nucleotídica es "sustancialmente similar" o "sustancialmente igual" que una secuencia de referencia, si la secuencia de aminoácidos o nucleotídica tiene al menos 70% de identidad con una secuencia especificada dentro de una región seleccionada para la

comparación. Así, las secuencias sustancialmente similares incluyen aquéllas que tienen, por ejemplo, al menos 75% de identidad, por ejemplo, al menos 80% de identidad, al menos 85% de identidad, al menos 90% de identidad (por ejemplo, 5 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98% o 99% de identidad). Dos secuencias que son idénticas también son sustancialmente similares.

La identidad de la secuencia se determina basándose en una secuencia de referencia. Los algoritmos 10 para el análisis de la secuencia son conocidos en la técnica, tales como IgBLAST descrito en Ye et al. Nucleic Acids Res. 2013, W34-40. Para los propósitos de la presente invención, para determinar el nivel de identidad y similitud entre las secuencias nucleotídicas y las 15 secuencias de aminoácidos, las secuencias nucleotídicas y de aminoácidos pueden compararse con la ayuda del paquete de programas IgBLAST proporcionado por el National Center for Biotechnology Information (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/>), utilizando la 20 alineación con huecos con parámetros estándar. Para calcular el por ciento de identidad, se utiliza la longitud completa de la secuencia de referencia, por ejemplo, una región variable.

La referencia a una secuencia nucleotídica que 25 "codifica" el polipéptido, significa que el polipéptido se

produce de la secuencia nucleotídica durante la traducción y transcripción del ARNm. De este modo, puede indicarse tanto una cadena codificante idéntica a ARNm utilizada típicamente en la lista de secuencias como una cadena complementaria que sirve como una plantilla para la transcripción. Como será obvio para aquellos con experiencia en la técnica, el término también incluye cualesquier secuencias nucleotídicas degeneradas que codifican la misma secuencia de aminoácidos. Las secuencias nucleotídicas que codifican el polipéptido incluyen las secuencias que comprenden intrones.

Anticuerpos

Como se mencionó anteriormente, la presente invención se relaciona con anticuerpos monoclonales aislados y fragmentos funcionales de los mismos, que tienen la capacidad de unirse de manera específica a la región de la cadena beta de la familia TRBV9 del receptor T humano.

Los anticuerpos de acuerdo con la invención están caracterizados en que

a) un dominio variable de la cadena pesada (VH) del mismo, comprende 3 regiones hipervariables, HCDR1, HCDR2 y HCDR3, en donde

Los anticuerpos de la presente invención están caracterizados en que

a) un dominio variable de la cadena pesada (VH) del mismo, comprende 3 regiones hipervariables, HCDR1, HCDR2 y HCDR3, en donde

la HCDR1 (de acuerdo con el esquema de numeración de Kabat), tiene la secuencia de aminoácidos DYLVH (SEQ ID NO: 1);

la HCDR2 tiene la secuencia de aminoácidos WINTYTGTPYADDFEG (SEQ ID NO: 2);

la HCDR3 tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste de SWRRGLRGLGFDY (SEQ ID NO: 3), SWRRGLRGIGFDY (SEQ ID NO: 4), SWRRGIRGLGFDY (SEQ ID NO: 5), SWRRGIRGIGFDY (SEQ ID NO: 6);

b) un dominio variable de la cadena ligera (VL) del mismo, comprende 3 regiones hipervariables, LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde:

la LCDR1 tiene la secuencia de aminoácidos KASKSINKYLA (SEQ ID NO: 7);

la LCDR2 tiene la secuencia de aminoácidos DGSTLQS (SEQ ID NO: 8);

la LCDR3 tiene la secuencia de aminoácidos QQHNEYPPPT (SEQ ID NO: 9).

Los anticuerpos de acuerdo con la invención pueden ser anticuerpos o fragmentos que se unen al antígeno de los mismos quiméricos, humanizados o humanos, y pueden utilizarse como una medicina para tratar la enfermedad de

Bekhterev y otras enfermedades, la patogénesis de las cuales involucran los TCR que pertenecen a la familia TRBV9, por ejemplo, la enfermedad celiaca o el linfoma de las células T.

5 Los anticuerpos monoclonales de la invención pueden obtenerse utilizando, por ejemplo, técnicas de hibridoma bien conocidas en el campo, así como tecnologías recombinantes, tecnologías de representación del fago, tecnologías sintéticas o combinaciones de tales tecnologías
10 u otras tecnologías bien conocidas en la técnica. El término "anticuerpo monoclonal" como se utiliza en esta solicitud, se refiere a un anticuerpo obtenido de una copia única o de una clona incluyendo, por ejemplo, cualquier clona eucariota, procariota o de fago, en lugar del método
15 de producción del mismo.

 Los anticuerpos humanos o quimérico pueden obtenerse mediante síntesis peptídica utilizando técnicas de ADN recombinante como se describe en la sección de "Ácidos Nucleicos" a continuación.

20 En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente invención son quiméricos y están caracterizados en que tienen dominios variables de la cadenas ligeras y pesadas de origen no humano (por ejemplo, de rata o ratón), y de dominios constantes de origen humano. En algunas
25 modalidades, los anticuerpos de la presente invención están

caracterizados en que tienen la secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada, seleccionada del grupo de la SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, y la secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena ligera mostrada en la SEQ ID NO: 11. De este modo, en las modalidades preferidas, el anticuerpo comprende la región constante de la cadena pesada, tal como la región constante de la IgG1, IgG2, IgGS, IgG4, IgA, IgE, IgM, IgD humanas. De manera preferida, la región constante de la cadena pesada es una región constante de la cadena pesada de la IgG1 humana. Además, un anticuerpo puede comprender ya sea una región constante de la cadena ligera o una región constante kappa de la cadena ligera o una región constante lambda de la cadena ligera. De manera preferida, el anticuerpo comprende una región constante kappa de la cadena ligera.

Los ejemplos de las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesadas de los anticuerpos anti-TRBV9-1, anti-TRBV9-2, anti-TRBV9-3 o anti-TRBV9-4, de acuerdo con la invención, se muestran en la SEQ ID NO: 21, 23, 25 y 27, respectivamente. Una secuencia de aminoácidos ejemplar de la cadena ligera de un anticuerpo se muestra en la SEQ ID NO: 29.

En algunas modalidades, las secuencias de aminoácidos de las regiones del marco de los dominios

variables de un anticuerpo, o porciones de las mismas, son generalmente de origen humano y, por lo tanto, son "anticuerpos humanizados". Esta "humanización" se considera útil para reducir la inmunogenicidad del anticuerpo para uso terapéutico en los pacientes. Ciertos residuos de aminoácidos seleccionados en las regiones del marco siguen siendo de rata, más que de humano.

En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente invención y los fragmentos que se unen al antígeno de los mismos, incluyen los dominios variables de las cadenas ligeras, las secuencias de aminoácidos de las cuales son sustancialmente similares a aquéllas de la SEQ ID NO: 11, por ejemplo, son al menos 90% idénticas, con más frecuencia, al menos 93% idénticas, típicamente 94% o más idénticas (de manera preferida, 95% o más idénticas, 96% o más idénticas; 97% o más idénticas, 98% o más idénticas, 99% o más idénticas, o 99.5% o más idénticas).

En algunas modalidades, los anticuerpos de la presente invención y los fragmentos que se unen al antígeno de los mismos, incluyen los dominios variables de las cadenas pesadas, las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de las cuales, son sustancialmente similares a aquellas seleccionadas del grupo de la SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19. Por ejemplo, tienen una secuencia de aminoácidos que es al menos 90% idéntica,

con más frecuencia al menos 93% idéntica, típicamente 94% o más idéntica (de manera preferida 95% o más idéntica, 96% o más idéntica; 97% o más idéntica, 98% o más idéntica, 99% o más idéntica o 99.5% o más idéntica), a aquélla
5 seleccionada del grupo de la SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19.

En algunas modalidades, un anticuerpo de la presente invención incluye una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 90% idéntica (por
10 ejemplo, 93% o más idéntica, 94% o más idéntica, 95% o más idéntica, 96% o más idéntica; 97% o más idéntica, 98% o más idéntica, 99% o más idéntica, o 99.5% o más idéntica), que aquélla seleccionada del grupo que consiste de la SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, y una
15 cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 90% idéntica (por ejemplo, 93% o más idéntica, 94% o más idéntica, 95% o más idéntica, 96% o más idéntica; 97% o más idéntica, 98% o más idéntica, 99% o más idéntica o 99.5% o más idéntica), que aquélla de la SEQ ID NO: 29.

20 Como se conoce de la técnica previa, pueden introducirse mutaciones en las secuencias del anticuerpo, incluyendo los dominios variables, que no alteran de manera sustancial la capacidad del anticuerpo para unirse a un antígeno. Los anticuerpos de la presente invención pueden
25 también comprender mutaciones adicionales que no conducen a

una pérdida de la capacidad del anticuerpo para unirse a la cadena beta de la familia TRBV9 del TCR, pero que pueden conducir a una disminución en la citotoxicidad mediada por la célula dependiente del anticuerpo, o un incremento en la afinidad u otras propiedades biológicas de los anticuerpos. En particular, como es bien conocido de la técnica previa, las sustituciones conservadoras de aminoácidos pueden hacerse en una secuencia del anticuerpo. "Sustitución conservadora", como se utiliza en esta solicitud, significa una sustitución en la cual un residuo de aminoácidos se sustituye por otro residuo de aminoácidos que tiene una cadena lateral similar. Las familias de los residuos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares son bien conocidas en la técnica, que incluyen cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales con ramificación β (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina), y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). De manera preferida, las regiones CDR3 en los dominios VL y/o VH incluyen no más

de cinco sustituciones conservadoras de aminoácidos, con
más frecuencia, no más de tres sustituciones conservadoras.
Típicamente, las sustituciones conservadoras no se hacen en
las posiciones de los aminoácidos que son críticos para
5 unir el epitopo de la cadena beta de la familia TRBV9.

Las variantes (mutantes) anteriores de los
anticuerpos de acuerdo con la invención, pueden generarse
mediante síntesis peptídica o utilizando técnicas de ADN
recombinante como se describe en la sección "Ácidos
10 nucleicos" a continuación.

También se proporcionan fragmentos que se unen al
antígeno de los anticuerpos de la presente invención. El
término "fragmento que se une al antígeno" de un anticuerpo
(o "fragmento funcional de un anticuerpo" o "fragmento
15 activo de un anticuerpo"), como se utiliza en el presente
documento, se refiere a uno o más fragmentos de anticuerpo
que retienen la capacidad de unirse de manera específica a
un antígeno. Se ha mostrado que la función de unión al
antígeno de un anticuerpo puede realizarse por los
20 fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Los
ejemplos de los fragmentos de unión abarcados dentro del
término "porción que se une al antígeno" de un anticuerpo
incluyen (a) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que
consiste de los dominios VL, VH, CL y CH1; (b) un fragmento
25 F(ab)2, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos

Fab enlazados por un puente de disulfuro en la región de bisagra; (c) un fragmento Fd que consiste de los dominios VH y CH1; (d) un fragmento Fv que consiste de los dominios VL y VH de un brazo único de un anticuerpo; (e) un
5 fragmento dAb (Ward et al. (1989) Nature 341:544-546), que consiste de un dominio VH, y (f) una región que determina la complementariedad (CDR) aislada. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, se codifican por genes separados, pueden enlazarse, utilizando métodos
10 recombinantes, mediante un enlazante sintético que les permita formarse como una cadena de proteína única en la cual las regiones VL y VH se aparean para formar moléculas monovalentes (conocidas como una cadena Fv única (scFv); véase, por ejemplo, Bird et al. (1988) Science 242:423-426; Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-
15 5883). Tales anticuerpos de cadena única también están contemplados para estar abarcados dentro del término "fragmento que se une al antígeno" de un anticuerpo. También incluyen otras formas de anticuerpos de cadena
20 única, tales como diacuerpos. Los diacuerpos son anticuerpos biespecíficos bivalentes, en los cuales los dominios VH y VL se expresan en una cadena polipeptídica única, pero utilizando un enlazante que es demasiado corto para permitir el apareamiento entre los dos dominios en la
25 misma cadena, forzando de este modo a que los dominios se

aparecen con los dominios complementarios de otra cadena, y creando dos sitios que se unen al antígeno (véase, por ejemplo, Holliger P. et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak R. J. et al. (1994) Structure 2:1121-1123).

Los fragmentos de anticuerpo, tales como Fab y F(ab')₂, pueden obtenerse de los anticuerpos completos utilizando técnicas convencionales, tales como digestión con papaína o pepsina, respectivamente, de los anticuerpos completos. Además, los anticuerpos, fragmentos de anticuerpo y moléculas de inmunoadhesión, pueden obtenerse utilizando técnicas de ADN recombinante estándar.

El anticuerpo o porción que se une al antígeno del mismo, puede ser parte de las moléculas de inmunoadhesión más grandes formadas mediante la asociación covalente o no covalente del anticuerpo o el fragmento del anticuerpo con una o más proteínas o péptidos. Los ejemplos de tales moléculas de inmunoadhesión incluyen el uso de una región del núcleo de estreptavidina para hacer una molécula de scFv tetramérica (Kipriyanov S. M. et al. (1995) Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101), y el uso de un residuo de cisteína, un péptido marcador y una marca de polihistidina C terminal para hacer biomoléculas de scFv bivalentes y de tamaño reducido (Kipriyanov S. M. et al. (1994) Mol. Immunol., 31:1047-1058). Otros enlaces químicos

entre los fragmentos de anticuerpo también son bien conocidos del estado de la técnica.

Los anticuerpos y los fragmentos funcionales de los mismos de acuerdo con la invención, están presentes en una forma aislada, es decir, esto significa que tal proteína, está sustancialmente libre de la presencia de otras proteínas u otras moléculas biológicas naturales, tales como oligosacáridos, ácidos nucleicos y fragmentos de los mismos, etc., en donde el término "sustancialmente libre" significa en este caso, que menos del 70%, típicamente menos que el 60%, y con más frecuencia menos que el 50% de la composición que comprende la proteína aislada, es otra molécula biológica natural. En algunas modalidades, las proteínas están presentes en una forma sustancialmente purificada, en donde el término "forma sustancialmente purificada" significa una pureza igual a al menos 95%, típicamente igual a al menos 97%, y con más frecuencia, igual a al menos 99%.

Los métodos para purificar un anticuerpo obtenido mediante técnicas recombinantes o de hibridoma son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, la purificación puede realizarse mediante cromatografía (por ejemplo, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad, especialmente afinidad por los antígenos específicos Proteína A o Proteína G, y cromatografía en

columna de exclusión por tamaño), centrifugación, solubilidad diferencial o cualquier otra técnica estándar para purificar proteínas. Además, los anticuerpos generados por la tecnología de acuerdo con la presente invención o
5 los fragmentos de los mismos, pueden fusionarse a secuencias polipeptídicas heterólogas (por ejemplo, una marca de histidina) para facilitar la purificación.

La afinidad del anticuerpo puede determinarse utilizando el análisis estándar determinando las constantes
10 de disociación (K_D). La K_D se calcula utilizando la ecuación $K_D = k_d/k_{on}$, en donde k_d es la constante de la velocidad de disociación calculada experimentalmente y k_{on} es la constante de velocidad de asociación calculada experimentalmente del complejo de anticuerpo-antígeno.

15 Los anticuerpos preferidos son aquéllos que se unen al antígeno humano con un valor de K_D de no más que aproximadamente 1×10^{-7} M; de manera preferida, no más que aproximadamente 1×10^{-8} M; con más frecuencia no más que aproximadamente 1×10^{-9} M; de manera más preferida, no más
20 que aproximadamente 1×10^{-10} M, y de manera más preferida, no más que aproximadamente 1×10^{-11} M, por ejemplo, no más que aproximadamente 1×10^{-12} M.

Los anticuerpos preferidos incluyen anti-TRBV9-1, anti-TRBV9-2, anti-TRBV9-3 o anti-TRBV9-4, caracterizados
25 por la secuencia de la CDR3 y descritos con detalle en la

sección experimental a continuación.

Los anticuerpos y fragmentos de los mismos que pueden utilizarse en las composiciones y métodos presentes, son anticuerpos y fragmentos biológicamente activos, es decir, son capaces de unirse a los epitopos antigénicos
5 deseados y exhibir el efecto biológico de manera directa o indirecta.

Los anticuerpos y fragmentos funcionales de los mismos de acuerdo con la invención, son capaces de unirse
10 de manera específica al epitopo (región) de la cadena beta de la familia TRBV9. En las modalidades preferidas, la unión específica del mismo a la cadena beta de la familia TRBV9 resulta en una actividad inhibida de los TCR, que incluyen la cadena beta. Típicamente, la inhibición es de
15 manera preferida, al menos de aproximadamente 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95% o más.

En algunas modalidades, un anticuerpo contra la cadena beta de la familia TRBV9 de acuerdo con la invención o un fragmento del mismo, puede eliminar las células T que
20 portan el TCR que comprende la cadena beta de la familia TRBV9. En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento del mismo de acuerdo con la invención, puede proporcionar al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 50%,
25 al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%,

al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, o aproximadamente 100% de eliminación de los linfocitos T.

5

Ácidos nucleicos

La presente invención proporciona moléculas de ácidos nucleicos que codifican las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo de la presente invención, los fragmentos funcionales y los dominios variables del mismo, que pueden utilizarse para producir anticuerpos quiméricos, incluyendo los dominios variables de la invención fusionados de manera operativa con los dominios constantes conocidos de los anticuerpos humanos.

En las modalidades preferidas, un ácido nucleico de la invención codifica una cadena pesada del anticuerpo, el dominio variable de la cual comprende 3 regiones hipervariables, HCDR1, HCDR2 y HCDR3, en donde

La HCDR1 (de acuerdo con el esquema de numeración de Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1;

La HCDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2;

La HCDR3 tiene la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste de la SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6;

En las modalidades preferidas, un ácido nucleico de la invención codifica una cadena ligera del anticuerpo, el dominio variable de la cual comprende 3 regiones hipervariables, LCDR1, LCDR2 y LCDR3, en donde:

5 La LCDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7;

 La LCDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8;

 La LCDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de la
10 SEQ ID NO: 9.

Las moléculas de ácido nucleico que codifican los homólogos y mutantes de las cadenas del anticuerpo, los fragmentos funcionales y dominios de los mismos, también están dentro del alcance de la presente invención.

15 En algunas modalidades, el ácido nucleico codifica una cadena ligera del anticuerpo, el dominio variable de la cual comprende una secuencia de aminoácidos que es sustancialmente similar a aquélla de la SEQ ID NO: 11; por ejemplo, son al menos 90% idénticas, con más
20 frecuencia al menos 93% idénticas, típicamente 94% o más idénticas (de manera preferida 95% o más idénticas, 96% o más idénticas; 97% o más idénticas, 98% o más idénticas, 99% o más idénticas, o 99.5% o más idénticas).

 En algunas modalidades, el ácido nucleico
25 codifica una cadena pesada del anticuerpo, el dominio

variable de la cual comprende una secuencia de aminoácidos que es sustancialmente similar a aquélla seleccionada del grupo que consiste de la SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19; por ejemplo, son al menos 90% idénticas, con más frecuencia al menos 93% idénticas, típicamente 94% o más idénticas (de manera preferida 95% o más idénticas, 96% o más idénticas; 97% o más idénticas, 98% o más idénticas, 99% o más idénticas o 99.5% o más idénticas).

En algunas modalidades, los ácidos nucleicos codifican una cadena ligera del anticuerpo que comprende un dominio variable, la secuencia de aminoácidos de la cual se muestra en la SEQ ID NO: 11, y una cadena pesada del anticuerpo que comprende un dominio variable, la secuencia de aminoácidos de la cual se selecciona del grupo que consiste de la SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19.

En algunas modalidades, el ácido nucleico codifica los dominios variables, las secuencias de aminoácidos de los cuales se presentan en la SEQ ID NO: 11, 13,15,19, que pueden utilizarse para la fusión operable con los ácidos nucleicos que codifican los dominios constantes correspondientes de los anticuerpos.

Los tipos específicos ejemplares de moléculas de ácidos nucleicos de interés se describen con más detalle a

continuación en la sección experimental.

Como se utiliza en el presente documento, una molécula de ácido nucleico es una molécula de ADN, tal como una molécula de ADN genómico o una molécula de ADNc, o una
5 molécula de ARN, tal como una molécula de ARNm. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico de la presente invención es una molécula de ADN (o ADNc) que comprende un marco de lectura abierto que codifica un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de la presente invención, y es
10 capaz, bajo condiciones adecuadas (por ejemplo, condiciones fisiológicas intracelulares), de ser utilizada para la expresión en un sistema de expresión heterólogo.

En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico de la presente invención se produce mediante
15 métodos de ingeniería genética. Los métodos para producir los ácidos nucleicos son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, la disponibilidad de la información de la secuencia de aminoácidos o la información de la secuencia nucleotídica permite la preparación de moléculas de ácido
20 nucleico aisladas de la presente invención, mediante síntesis oligonucleotídica. En el caso de la información de la secuencia de aminoácidos, pueden sintetizarse varios ácidos nucleicos que difieren unos de otros debido a un código degenerado. Los métodos para seleccionar las
25 variantes del codón para un hospedero deseado, son bien

conocidos en la técnica.

Los oligonucleótidos sintéticos pueden prepararse mediante el método con fosforamidita, y los constructos resultantes pueden purificarse de acuerdo con los métodos bien conocidos en la técnica, tales como cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC) u otros métodos como se describe en, por ejemplo, Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Ed., (1989) Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY, y bajo los lineamientos descritos en, por ejemplo, Departamento de los Estados Unidos de HHS, Lineamientos del Instituto Nacional de Salud (NIH) para la Investigación del ADN Recombinante (*United States Dept. of HHS, National Institute of Health (NIH) Guidelines for Recombinant DNA Research*). Las moléculas de ADN largas, de doble hebra, de la presente invención, pueden sintetizarse de la siguiente manera: sintetizando varios fragmentos más pequeños de complementariedad apropiada que comprendan términos apropiados capaces de cohesión con un fragmento adyacente. Los fragmentos adyacentes pueden enlazarse utilizando la ADN ligasa o un método basado en la PCR.

Las moléculas de ácido nucleico de la presente invención también pueden clonarse de fuentes biológicas.

La presente invención también abarca ácidos nucleicos que son homólogos, sustancialmente los mismos,

idénticos, o derivados de los ácidos nucleicos que codifican los polipéptidos de la presente invención.

Los ácidos nucleicos de la invención están presentes en un medio diferente del cual están presentes en la naturaleza, por ejemplo, están aislados, presentes en una cantidad incrementada, presentes o expresados en sistemas *in vitro* o en células u organismos diferentes a aquéllos en los cuales están presentes en condiciones naturales.

Los cambios o diferencias en la secuencia nucleotídica entre las secuencias de ácidos nucleicos relacionadas estrechamente, pueden representar cambios de los nucleótidos en la secuencia que surgen durante el curso de la replicación o duplicación normal. Otros cambios pueden diseñarse de manera específica e introducirse en la secuencia para propósitos específicos, tales como cambiar los codones de los aminoácidos específicos o una secuencia nucleotídica en una región regulatoria. Tales cambios específicos pueden hacerse *in vitro* utilizando una variedad de técnicas de mutagénesis, u obtenerse en organismos hospederos colocados bajo condiciones de selección específicas, que inducen o seleccionan los cambios. Tales variantes de la secuencia generadas de manera específica pueden referirse como "mutantes" o "derivados" de la secuencia original.

Los ácidos nucleicos mutantes o derivados pueden obtenerse en un ácido nucleico de plantilla seleccionado de los ácidos nucleicos anteriores mediante modificación, supresión o adición de uno o más nucleótidos en la secuencia de la plantilla, o una combinación de los mismos, para producir una variante del ácido nucleico de plantilla. Las modificaciones, adiciones o supresiones pueden realizarse mediante cualquier método conocido en la técnica (véase, por ejemplo, Gustin et al., *Biotechniques* (1993) 14: 22; Barany, *Gene* (1985) 37: 111-123; and Colicelli et al., *Mol. Gen. Genet.* (1985) 199:537-539, Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (1989), CSH Press, pp. 15.3-15.108), incluyendo PCR propensa a error, orden aleatorio, mutagénesis dirigida al oligonucleótido, PCR de montaje, mutagénesis con PCR sexual, mutagénesis *in vivo*, mutagénesis con casete, mutagénesis de conjunto recursivo, mutagénesis de conjunto exponencial, mutagénesis específica del sitio, mutagénesis aleatoria, remontaje del gen, mutagénesis saturada en el sitio del gen (GSSM), remontaje con ligadura sintética (SLR), o una combinación de los mismos. Las modificaciones, adiciones o supresiones pueden también realizarse mediante un método que comprende la recombinación, recombinación de la secuencia recursiva, mutagénesis del ADN modificada con fosfotioato, mutagénesis con plantilla que contiene uracilo, mutagénesis dúplex con

huecos, mutagénesis y reparación del desfase puntual, mutagénesis de la cepa del hospedero con reparación deficiente, mutagénesis química, mutagénesis radiogénica, mutagénesis con supresión, mutagénesis de restricción-selección, mutagénesis de restricción-purificación, síntesis del gen artificial, mutagénesis de conjunto, creación de un multímero de ácido nucleico quimérico y una combinación de los mismos.

También se proporcionan variantes degeneradas de los ácidos nucleicos que codifican las proteínas de la presente invención. Las variantes degeneradas de los ácidos nucleicos incluyen reemplazos de los codones del ácido nucleico con otros codones que codifican los mismos aminoácidos. En particular, las variantes degeneradas de los ácidos nucleicos se generan para incrementar la expresión en una célula hospedera. En esta modalidad, los codones del ácido nucleico que no preferidos o son menos preferidos en los genes en la célula hospedera, se reemplazan con los codones sobrerrepresentados en las secuencias codificantes en los genes en la célula hospedera, en donde los codones reemplazados codifican los mismos aminoácidos. La optimización del código genético es bien conocida de la técnica previa.

Las modificaciones anteriores no alteran sustancialmente las propiedades de los anticuerpos o los

fragmentos funcionales de los mismos, sino que facilitan el plegado de la proteína en una célula hospedera, disminuyendo la capacidad de agregación o modulando otras propiedades bioquímicas de las proteínas, por ejemplo, el periodo de la vida media. En algunas modalidades, estas modificaciones no modifican las propiedades bioquímicas de la proteína. Todos los tipos de modificaciones y mutaciones especificadas anteriormente se realizan a nivel del ácido nucleico.

Los ácidos nucleicos reclamados pueden aislarse y prepararse en una forma sustancialmente purificada. Una forma sustancialmente purificada significa que los ácidos nucleicos son al menos aproximadamente 50% puros, típicamente al menos aproximadamente 90% puros y típicamente son "recombinantes", es decir, están flanqueados por uno o más nucleótidos con los cuales no se asocian típicamente en un cromosoma que aparece en la naturaleza en el organismo hospedero natural del mismo.

También se proporcionan ácidos nucleicos que codifican las proteínas de fusión que comprenden una proteína de la presente invención, o fragmentos de la misma, que se discuten con más detalle a continuación. Los ácidos nucleicos que codifican los dominios variables de la invención, pueden enlazarse de manera operativa a los ácidos nucleicos que codifican los dominios constantes

correspondientes de las cadenas ligeras y pesadas del anticuerpo. Los ácidos nucleicos que codifican las cadenas ligeras y pesadas de un anticuerpo, pueden enlazarse de manera operativa a los ácidos nucleicos que codifican un péptido líder que facilita el transporte de los productos de expresión de la célula hospedera. El péptido líder se elimina posteriormente durante la maduración del polipéptido.

También se proporciona un vector y otros constructos de ácidos nucleicos que comprenden los ácidos nucleicos reclamados. El término "vector" se refiere a una molécula de ácido nucleico capaz de transportar otro ácido nucleico al cual se ha enlazado de manera operativa. Ciertos vectores pueden replicarse de manera autónoma en las células hospederas en las cuales se introdujeron, mientras que otros vectores pueden integrarse en el genoma de la célula hospedera y replicarse junto con el genoma del hospedero. Además, algunos vectores son capaces de dirigir la expresión de los genes a los cuales se han enlazado de manera operativa. Tales vectores son llamados en esta solicitud "vectores de expresión recombinantes" (o simplemente "vectores de expresión"); los vectores ejemplares son bien conocidos de la técnica previa. Los vectores adecuados incluyen vectores virales y no virales, plásmidos, cósmidos, fagos, etc., de manera preferida

plásmidos, y se utilizan para la clonación, amplificación
expresión, transferencia, etc., de una secuencia de ácidos
nucleicos de la presente invención a un hospedero
apropiado. La elección del vector apropiado será obvia para
5 aquellos con experiencia en la técnica. Un ácido nucleico
de longitud completa o una porción del mismo se inserta en
un vector, típicamente por medio de la unión con ADN ligasa
a un sitio de la enzima de restricción escindida en el
vector. De manera alterna, la secuencia nucleotídica
10 deseada puede insertarse mediante recombinación homóloga *in*
vivo, típicamente uniendo las regiones de homología al
vector en los flancos de la secuencia nucleotídica deseada.
Las regiones de homología se agregan mediante ligadura de
los oligonucleótidos, o mediante la reacción en cadena de
15 la polimerasa utilizando los cebadores que comprenden, por
ejemplo, tanto la región de homología como una porción de
la secuencia nucleotídica deseada. Típicamente, el vector
tiene un origen de replicación que asegura la propagación
del mismo en las células hospederas, como un resultado de
20 la introducción del mismo en una célula como un elemento
extracromosomal. El vector, como una regla, puede también
comprender elementos regulatorios que aseguran la expresión
de un ácido nucleico en la célula hospedera y la generación
del polipéptido objetivo. En el vector de expresión, tal
25 ácido nucleico se enlaza de manera operativa a una

secuencia regulatoria que puede incluir promotores, mejoradores, terminadores, operadores, represores e inductores, así como un codón de inicio del polipéptido. En algunas modalidades, un ácido nucleico de la invención se
5 enlaza de manera operativa adicionalmente a un péptido líder, asegurando el aislamiento de un producto de expresión de la célula hospedera en el espacio extracelular.

También se proporcionan casetes o sistemas de
10 expresión utilizados *inter alia* para la producción de los polipéptidos en cuestión (por ejemplo, las cadenas ligeras y pesadas de un anticuerpo de la invención), basados en los mismos o para la replicación de las moléculas del ácido nucleico en cuestión. El casete de expresión puede existir
15 como un elemento extracromosomal o puede integrarse en el genoma de la célula como resultado de la introducción del casete de expresión en la célula. Para la expresión, un producto de la proteína codificado por el ácido nucleico de la invención, se expresa en cualquier sistema de expresión
20 conveniente, incluyendo, por ejemplo, sistemas bacterianos, levadura, células de insectos, anfibios o mamíferos. En el casete de expresión, un ácido nucleico objetivo se enlaza de manera operativa a las secuencias regulatorias que pueden incluir promotores, mejoradores, secuencias de
25 terminación, operadores, represores e inductores, así como

un codón de inicio del polipéptido. En algunas modalidades, un ácido nucleico de la invención se enlaza de manera operativa además, a un péptido líder, asegurando el aislamiento de un producto de expresión de la célula
5 hospedera en el espacio extracelular. Los métodos para preparar los casetes o sistemas de expresión capaces de expresar el producto deseado, son conocidos por aquellos con experiencia en la técnica.

Los sistemas de expresión anteriores pueden
10 utilizarse en hospederos procariotas o eucariotas. Las células hospederas, tales como *E. coli*, *B. subtilis*, *S. cerevisiae*, células de insecto en combinación con vectores de baculovirus, o células de un organismo superior, que no sean células embriónicas humanas, tales como levadura,
15 plantas, vertebrados, por ejemplo, células CHO (por ejemplo, ATCC CRL-9096), células NS0, células SP2/0, células HEK293, células COS (por ejemplo, ATCC CRL-1650, CRL-1651) y HeLa (ATCC CCL-2), pueden utilizarse para la producción de la proteína.

20 Para producir un anticuerpo de la invención, la célula hospedera se cotransforma con un vector de expresión que comprende un ácido nucleico que codifica una cadena ligera del anticuerpo y un vector de expresión que comprende un ácido nucleico que codifica una cadena pesada
25 del anticuerpo. En algunas modalidades, se utiliza un

vector de expresión único, en el cual se introducen los ácidos nucleicos que codifican ambas de las cadenas ligeras y pesadas de un anticuerpo.

Para la expresión de las cadenas ligeras y pesadas, los vectores de expresión que codifican las cadenas pesadas y ligeras se transforman (cotransforman) en una célula hospedera, de manera que las cadenas ligeras y pesadas se expresan en la célula hospedera, y de manera preferida, se secretan en el medio, en el cual se cultivan las células hospederas, y medio del cual pueden aislarse los anticuerpos. Varias interpretaciones del término "transformación" pretenden incluir una amplia gama de métodos utilizados comúnmente para introducir el ADN exógeno en una célula hospedera procariota o eucariota, por ejemplo, electroporación, precipitación con fosfato de calcio, transfección con DEAE-dextrano, etc., como se describe en Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds) Molecular Cloning; A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989; Ausubel F. M. et al. (eds.) Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates (1989).

Cuando los vectores de expresión recombinantes que comprenden los ácidos nucleicos del anticuerpo se introducen en las células hospederas, los anticuerpos se generan cultivando las células hospederas durante un

periodo de tiempo suficiente para expresar el anticuerpo en la célula hospedera, o (de manera más preferida), secretar el anticuerpo en el medio de cultivo, en el cual se cultivan las células hospederas. Los anticuerpos pueden
5 aislarse de un medio de cultivo utilizando técnicas de purificación estándar de la proteína. Las condiciones del cultivo celular son bien conocidas por aquellos con experiencia en la técnica, y se describen en Current Protocols in Cell Biology, Bonifacino J. S., Dasso M.,
10 Harford J. B., Lippincott-Schwartz J. and Yamada K. M. (eds.) publicado por John Wiley & Sons, Inc., 2000.

Si se utiliza cualquiera de las células hospederas anteriores u otras células hospederas u organismos adecuados para la replicación y/o expresión de
15 los ácidos nucleicos de la invención, el ácido nucleico replicado, la proteína o el polipéptido expresado resultantes están dentro del alcance de la invención, como un producto de la célula hospedera u organismo. El producto puede aislarse mediante una técnica adecuada conocida en el
20 campo.

Las líneas celulares, que expresan de manera estable las proteínas de la presente invención, pueden seleccionarse mediante métodos conocidos en la técnica (por ejemplo, cotransfección con un marcador seleccionable, tal
25 como dhfr, gpt, neomicina, higromicina, que permiten la

identificación y aislamiento de las células transfectadas que contienen el gen integrado en un genoma).

Las moléculas de ácido nucleico de la presente invención también pueden utilizarse para determinar la expresión del gen en una muestra biológica. Un método en el cual las células se examinan para la presencia de las secuencias nucleotídicas específicas, tales como ADN o ARN genómico, está bien establecido en la técnica. Brevemente, el ADN o el ARN se aísla de una muestra de células. El ARNm puede amplificarse mediante RT-PCR, utilizando transcriptasa inversa para formar una hebra de ADN complementaria, seguida por la amplificación con reacción en cadena de la polimerasa utilizando cebadores específicos para las secuencias de ADN en cuestión. De manera alterna, la muestra de ARNm se separa mediante electroforesis en gel, se transfiere a un portador adecuado, por ejemplo, nitrocelulosa, nylon, etc., y a continuación se sondea con un fragmento del ADN en cuestión como una sonda. Otras técnicas, tales como ensayos de ligadura con oligonucleótidos, hibridaciones *in situ*, e hibridación a sondas de ADN inmovilizadas en una microplaqueta sólida, también pueden encontrar uso. La detección del ARNm que se hibrida a la secuencia en cuestión, es indicativa de la expresión del gen en la muestra.

Uso terapéutico de los anticuerpos de la

invención

En un aspecto, el anticuerpo o fragmento activo del mismo de la presente invención, se utiliza en el tratamiento de trastornos que están asociados con la actividad de los linfocitos T patológicos que portan los TCR de la familia TRBV9 de la superficie, por ejemplo, que exhiben actividad de los linfocitos T autoinmunes en la AS, enfermedad celiaca, linfomas de las células T.

El término "paciente", como se utiliza en esta solicitud, se refiere a un mamífero incluyendo, de manera no exclusiva, ratones, monos, humanos, mamíferos de ganado, mamíferos para deportes y mamíferos de mascotas; de manera preferida, el término se aplica a los humanos. En una modalidad particular, el paciente está caracterizado adicionalmente por una enfermedad o trastorno, o condición, mediado por la presencia en el cuerpo del mismo de un TCR, la cadena beta del cual pertenece a la familia TRBV9. Como se conoce de la técnica previa, el TCR, la cadena beta del cual pertenece a la familia TRBV9, se asocia con la AS y la enfermedad celiaca. Además, el TCR, la cadena beta del cual pertenece a la familia TRBV9, pueden asociarse con el desarrollo de varias enfermedades sanguíneas, tales como el linfoma de las células T causado por el virus de Epstein-Barr.

Como se utiliza en el presente documento, los

términos "coadministración", "coadministrado" y "en combinación con", refiriéndose al anticuerpo con uno o más de otros agentes terapéuticos, están contemplados para significar, referirse a, e incluir lo siguiente:

5 1) la administración simultánea de tal combinación de un anticuerpo de la invención y un agente terapéutico a un paciente en necesidad de tratamiento, cuando tales componentes se formulan juntos en una forma de dosificación única, que libera los componentes a
10 sustancialmente el mismo tiempo al paciente,

 2) la administración simultánea de tal combinación de un anticuerpo de esta invención y un agente terapéutico a un paciente en necesidad de tal tratamiento, cuando tales componentes se formulan separados unos de
15 otros, en formas de dosificación separadas, que se toman sustancialmente al mismo tiempo por el paciente, tras lo cual, los componentes se liberan sustancialmente al mismo tiempo al paciente,

 3) la administración secuencial de tal combinación de un anticuerpo de la invención y un agente terapéutico a un paciente en necesidad de tratamiento, cuando tales componentes se formulan separados unos de
20 otros en formas de dosificación separadas, que se toman en tiempos consecutivos por el paciente, con un intervalo de
25 tiempo significativo entre cada administración, tras lo

cual, los componentes se liberan sustancialmente en diferentes tiempos al paciente; y

4) la administración secuencial de la tal combinación de un anticuerpo de la invención y un agente terapéutico a un paciente en necesidad de tratamiento, cuando tales componentes se formulan juntos en una forma de dosificación única que libera los componentes de una manera controlada, tras lo cual se liberan de manera concurrente, consecutiva y/o superpuesta al mismo tiempo y/o en tiempos diferentes al paciente, en donde cada parte puede administrarse mediante la misma ruta o una ruta diferente.

Un anticuerpo de la invención (por ejemplo, anti-TRBV9-1, anti-TRBV9-2, anti-TRBV9-3 o anti-TRBV9-4), puede administrarse sin un tratamiento terapéutico adicional, es decir, como una terapia independiente. Además, el tratamiento mediante un anticuerpo de la invención puede comprender al menos un tratamiento terapéutico adicional (terapia de combinación). En algunas modalidades de la invención, el anticuerpo puede coadministrarse o formularse con otro medicamento/fármaco, para una enfermedad autoinmune u oncológica, la patogénesis de la cual involucra los TCR que comprenden la cadena beta de TRBV9, por ejemplo, AC, enfermedad celiaca, linfoma de las células T, leucemia de las células T.

Dosis y rutas de administración

Un anticuerpo de la invención se administrará en una cantidad que es efectiva en el tratamiento de la condición en cuestión, es decir, en dosis y durante los periodos de tiempo requeridos para lograr el resultado deseado. Una cantidad terapéuticamente efectiva puede variar de acuerdo con los factores tales como la condición específica a ser tratada, la edad, el sexo, y el peso de un paciente, y si el anticuerpo se administra solo o en combinación con una o más técnicas de tratamiento inmunosupresoras o antiinflamatorias adicionales.

Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta óptima. Por ejemplo, puede administrarse un bolo único, varias dosis divididas pueden administrarse con el tiempo o la dosis puede reducirse o incrementarse proporcionalmente, como se indica por las exigencias de la situación terapéutica. Es especialmente ventajoso formular las composiciones parenterales en una forma de dosificación unitaria para la facilidad de la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma de dosificación unitaria como se utiliza en el presente documento, pretende referirse a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para los pacientes/sujetos a ser tratados; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de un compuesto activo, calculada para obtener el efecto terapéutico

deseado en asociación con el portador farmacéutico deseado. La especificación de las formas de dosificación unitarias de la invención, se dicta típicamente por, y depende directamente de (a) las características únicas de un agente quimioterapéutico y el efecto terapéutico o profiláctico particular a ser logrado, y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de la composición, tales como un compuesto activo para el tratamiento de la sensibilidad en los sujetos.

Así, aquellos con experiencia en la técnica reconocerán de la descripción en el presente documento, que las dosificaciones y regímenes de dosificación se ajustan de acuerdo con los métodos bien conocidos en el campo terapéutico. Esto significa que una dosis tolerada máxima puede establecerse fácilmente, y una cantidad efectiva también puede determinarse, que proporcione un efecto terapéutico detectable para el paciente, así como los requisitos del tiempo para la administración de cada agente para lograr un efecto terapéutico visible para el paciente. Así, aunque algunas dosis y regímenes de dosificación se proporcionan como ejemplos en este documento, estos ejemplos de ninguna manera limitan las dosificaciones y regímenes de dosificación que pueden ser necesarios para el paciente en la práctica de la presente invención.

Deberá notarse que los valores de la dosificación

pueden variar con el tipo y severidad de la condición a ser aliviada, y pueden incluir dosis únicas o múltiples. Deberá entenderse además, que para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse con el tiempo, de acuerdo con la necesidad individual y el juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los intervalos de dosificación expuestos en el presente documento son ejemplares únicamente, y no pretenden limitar el alcance o la práctica de la composición representada. Además, el régimen de dosificación con las composiciones de la presente invención puede basarse en varios factores, incluyendo el tipo de una enfermedad, la edad, el peso, el género, la condición de salud del paciente, la severidad de una condición, la ruta de administración y un anticuerpo particular utilizado. Así, el régimen de dosificación puede variar ampliamente, pero puede determinarse de manera rutinaria utilizando los métodos estándar. Por ejemplo, las dosis pueden ajustarse basándose en los parámetros farmacocinéticos o farmacodinámicos, que pueden incluir los efectos clínicos, tales como los efectos tóxicos y/o los valores de laboratorio. Así, la presente invención abarca el escalamiento de la dosis intrapaciente, determinado por la persona con experiencia en la técnica. La determinación de la dosis y los modos requeridos, es bien conocida en el

campo relevante de la tecnología, y será clara para la persona con experiencia en la técnica, después de familiarizarse con las ideas descritas en este documento.

Los ejemplos de los métodos de administración adecuados se proporcionan anteriormente.

Está contemplado que una dosis adecuada de un anticuerpo de la invención estará en el intervalo de 0.1-200 mg/kg, de manera preferida 0.1-100 mg/kg, incluyendo aproximadamente 0.5-50 mg/kg, por ejemplo, aproximadamente 1-20 mg/kg. El anticuerpo puede administrarse, por ejemplo, en una dosis de al menos 0.25 mg/kg, tal como al menos 0.5 mg/kg, incluyendo al menos 1 mg/kg, por ejemplo, al menos 1.5 mg/kg, tal como al menos 2 mg/kg, por ejemplo, al menos 3 mg/kg, incluyendo al menos 4 mg/kg, por ejemplo, al menos 5 mg/kg; y por ejemplo, hasta un máximo de 50 mg/kg, incluyendo hasta un máximo de 30 mg/kg, por ejemplo, hasta un máximo de 20 mg/kg, incluyendo hasta un máximo de 15 mg/kg. La administración se repetirá típicamente en intervalos de tiempo apropiados, tal como una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas o una vez cada cuatro semanas, y mientras que se considere apropiado por un médico responsable, que puede, en algunos casos, incrementar o reducir la dosis, si es necesario.

Composición Farmacéutica

El anticuerpo de la invención puede incorporarse

en una composición farmacéutica adecuada para la administración a un paciente. Los anticuerpos de la invención pueden administrarse solos o en combinación con un portador, diluyente y/o excipientes farmacéuticamente aceptables, en dosis únicas o múltiples. Las composiciones farmacéuticas para la administración, se diseñan para ser apropiadas para el modo de administración seleccionado, y los diluyentes, portadores y/o excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como agentes de dispersión, amortiguadores, agentes tensoactivos, conservadores, agentes solubilizantes, agentes para la isotonicidad, agentes estabilizantes y lo similar se utilizan conforme sea apropiado. Las composiciones se diseñan de acuerdo con los métodos convencionales, como en por ejemplo, Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 19th Edition, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA 1995, que proporciona varias técnicas para obtener las composiciones como se conocen generalmente por los profesionales.

“Medicamento (fármaco)” - es un compuesto o una mezcla de compuestos como una composición farmacéutica en la forma de tabletas, cápsulas, polvos, liofilizados, inyecciones, infusión, ungüentos y otras formas preparadas pretendidas para restablecer, mejorar o modificar las funciones fisiológicas en los humanos y animales, y para el

tratamiento y prevención de las enfermedades, para el diagnóstico, anestesia, anticoncepción, cosmetología y otros. Cualquier método para administrar péptidos, proteínas o anticuerpos, aceptado en la técnica, puede
5 emplearse de manera adecuada para un anticuerpo de la invención.

El término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a uno o más componentes líquidos o sólidos compatibles, que son adecuados para la administración en un
10 mamífero, de manera preferida, un humano.

El término "excipiente" se utiliza en el presente documento para describir cualquier ingrediente aparte de los ingredientes de la invención anteriores. Éstos son sustancias de naturaleza inorgánica u orgánica que se
15 utilizan en la fabricación farmacéutica, con el fin de proporcionar a los medicamentos las propiedades fisicoquímicas necesarias.

El término "amortiguador", "composición de amortiguador", "agente amortiguador" se refiere a una
20 solución, que es capaz de resistir los cambios en el pH mediante la acción de sus componentes conjugados de ácido-base, y que permite que el fármaco del anticuerpo resista los cambios en el pH. Generalmente, la composición farmacéutica tiene de manera preferida, un pH en el
25 intervalo de 4.0 a 8.0. Los ejemplos de amortiguadores

utilizados incluyen, de manera no exclusiva, soluciones de amortiguador de acetato, fosfato, citrato, histidina, succinato, etc.

Los términos "agente tónico", "osmolito" o "agente osmótico", como se utilizan en el presente documento, se refieren a un excipiente que puede incrementar la presión osmótica de una formulación líquida del anticuerpo. Un fármaco "isotónico", es un fármaco que tiene una presión osmótica equivalente a aquélla de la sangre humana. Los fármacos isotónicos típicamente tienen una presión osmótica de aproximadamente 250 a 350 mOsm/kg. Los agentes isotónicos utilizados incluyen, de manera no exclusiva, polioles, sacáridos y sacarosa, aminoácidos, sales de metal, por ejemplo, cloruro de sodio, etc.

"Estabilizante" se refiere a un excipiente o una mezcla de dos o más excipientes, que proporciona la estabilidad física y/o química del agente activo. Los estabilizantes incluyen aminoácidos, por ejemplo, de manera no exclusiva, arginina, histidina, glicina, lisina, glutamina, prolina; agentes tensoactivos, por ejemplo, de manera no exclusiva, polisorbato 20 (nombre comercial: Tween 20), polisorbato 80 (nombre comercial: Tween 80), polietileno-polipropilén glicol y copolímeros de los mismos (nombres comerciales: Poloxámero, Pluronic, sulfato de dodecilo sódico (SDS); antioxidantes, por ejemplo, de

manera no exclusiva, metionina, acetilcisteína, ácido
ascórbico, monotioglicerol, sales de ácido sulfuroso, etc.;
agentes quelantes, por ejemplo, de manera no exclusiva,
ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido
5 dietilentriaminopentaacético (DTPA), citrato de sodio, etc.

Una composición farmacéutica es "estable" si el
agente activo mantiene la estabilidad física y/o la
estabilidad química y/o la actividad biológica del mismo
durante la vida útil especificada a la temperatura de
10 almacenamiento, por ejemplo, de 2-8°C. De manera preferida,
el agente activo mantiene tanto la estabilidad física como
la química, así como la actividad biológica. El periodo de
almacenamiento se ajusta basándose en los resultados de la
prueba de la estabilidad en condiciones de envejecimiento
15 acelerado o natural.

Una composición farmacéutica que comprende un
anticuerpo monoclonal de la invención puede administrarse a
un paciente que exhibe las patologías descritas en esta
solicitud, utilizando los métodos de administración
20 estándar, incluyendo administración peroral, intravenosa,
intraperitoneal, subcutánea, pulmonar, transdérmica,
intramuscular, intranasal, bucal, sublingual o con
supositorio.

La composición farmacéutica de la invención,
25 comprende de manera preferida o es una "cantidad

terapéuticamente efectiva" de un anticuerpo de la invención. El término "cantidad terapéuticamente efectiva" pretende referirse a una cantidad que es efectiva a dosificaciones y durante los periodos de tiempo necesarios para lograr el efecto terapéutico deseado. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso de un sujeto, y la capacidad de un anticuerpo o parte del mismo para provocar una respuesta deseada en un sujeto. Una cantidad terapéuticamente efectiva también es una en la cual cualesquier efectos tóxicos o perjudiciales son superados por los efectos terapéuticamente benéficos del anticuerpo. "Cantidad profilácticamente efectiva" pretende referirse a la cantidad que es efectiva a dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios para lograr el resultado profiláctico deseado. Puesto que una dosis profiláctica se prescribe para los individuos antes o en una etapa inicial de la enfermedad, típicamente una cantidad profilácticamente efectiva puede ser menor que una cantidad terapéuticamente efectiva.

Una cantidad terapéuticamente efectiva o profilácticamente efectiva, es al menos una dosis terapéuticamente benéfica mínima, que es menor que la dosis tóxica de un agente activo, necesaria para proporcionar un

beneficio terapéutico al paciente. Por una parte, una cantidad terapéuticamente efectiva de un anticuerpo de la invención, es una cantidad que reduce, en los mamíferos, de manera preferida humanos, la actividad biológica de las clonas autoinmunes, por ejemplo, a través de la unión al TCR, la cadena beta del cual pertenece a la familia TRBV9, en donde la presencia de las clonas causa o contribuye a efectos patológicos indeseables, o la disminución del TCR, la cadena beta del cual pertenece a la familia TRBV9, causa un efecto terapéutico benéfico en un mamífero, de manera preferida un humano.

La ruta de administración de un anticuerpo de la invención puede ser oral, parenteral, inhalación o local. De manera preferida, los anticuerpos de la invención pueden incluirse en una composición farmacéutica aceptable para la administración parenteral. El término "parenteral", como se utiliza en el presente documento, incluye la administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, rectal, vaginal o intraperitoneal. Las inyecciones intravenosas, intraperitoneales o subcutáneas son las rutas de administración preferidas. Los portadores farmacéuticos aceptables para tales inyecciones son bien conocidos de la técnica previa.

Como se describió en los lineamientos apropiados, las composiciones farmacéuticas deben ser estériles y

estables bajo las condiciones de producción y almacenamiento en un recipiente, que se proporciona, por ejemplo, mediante viales (ampolletas) o sellados herméticamente o jeringas. Así, las composiciones farmacéuticas pueden someterse a esterilización por filtración después de preparar la composición, o pueden hacerse microbiológicamente adecuadas mediante cualquier otra técnica. Una composición típica para una infusión intravenosa puede incluir 250-1,000 ml de un fluido tal como solución de Ringer estéril, solución salina fisiológica, solución de dextrosa o solución de sal de Hank, y una dosis terapéuticamente efectiva (por ejemplo, 1-100 mg/ml o más) de un concentrado del anticuerpo. Las dosis pueden variar dependiendo del tipo de enfermedad y de la severidad. Es bien conocido del estado de la técnica del campo médico, que las dosis para cualquiera de los pacientes dependen de múltiples factores, incluyendo el tamaño del paciente, el área de la superficie corporal, la edad, el compuesto específico a ser administrado, el género, la duración y la ruta de administración, el estado de salud general y otros medicamentos administrados de manera simultánea. Una dosis típica puede estar, por ejemplo, en un intervalo de 0.001-1,000 µg; sin embargo, se anticipan dosis más bajas o más altas que este intervalo ilustrativo, especialmente, dados los parámetros

mencionados anteriormente. El régimen de dosificación parenteral diario puede ser de 0.1 µg/kg a 100 µg/kg del peso corporal total, de manera preferida de 0.3 µg/kg a 10 µg/kg, y de manera más preferida, de 1 µg/kg a 1 µg/kg, aún
5 de manera más preferida, de 0.5 a 10 µg/kg de peso corporal por día. El proceso de tratamiento puede verificarse mediante una valoración periódica del estado de salud del paciente. Para la administración repetida durante varios días o más, dependiendo de la condición del paciente, el
10 tratamiento se repite hasta que la respuesta deseada o la supresión de los síntomas de una enfermedad. Sin embargo, otros regímenes de dosificación no descritos en el presente documento también pueden aplicarse. La dosificación deseada puede administrarse mediante una administración de un bolo
15 único, administraciones de múltiples bolos, o mediante la infusión continua del anticuerpo, dependiendo de la muestra de la desintegración farmacocinética que el profesional desee lograr.

Las propiedades asumidas de un anticuerpo
20 dependen en gran medida de una decisión del médico. El factor clave en elegir la dosis y el régimen apropiados, es el resultado deseado. Los factores considerados en el presente documento incluyen una cierta enfermedad a ser tratada, un cierto mamífero para recibir el tratamiento, la
25 condición clínica de un cierto paciente, la causa del

trastorno, el sitio de administración del anticuerpo, el tipo de anticuerpo específico, la ruta de administración, el régimen de administración y otros factores bien conocidos en el campo médico.

5 Los agentes terapéuticos de la invención pueden estar congelados o liofilizados y reconstituirse en un portador estéril apropiado antes de la administración. El secado por congelación y la reconstitución puede resultar en algo de pérdida de la actividad del anticuerpo. Las
10 dosis pueden ajustarse para compensar esta pérdida. Generalmente, se prefiere un pH de entre 6 y 8 para una composición farmacéutica.

Artículo de fábrica (productos) y equipos

15 Una modalidad adicional de la invención es un artículo de fábrica que comprende los productos utilizados para tratar las enfermedades autoinmunes y las condiciones relacionadas y las enfermedades sanguíneas malignas, la patogénesis de las cuales involucra los TCR que portan la
20 cadena beta de la familia TRBV9. Tales enfermedades incluyen, por ejemplo, la AS, la enfermedad celiaca, la leucemia de las células T, el linfoma de las células T y otras.

 El producto es un recipiente con una etiqueta y
25 un folleto adjunto, que puede estar en un envase blíster

y/o un empaque. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, viales, ampolletas, jeringas, etc. Los recipientes pueden hacerse de varios materiales tales como vidrio o un material polimérico. El recipiente comprende una
5 composición que es efectiva para tratar una cierta condición y puede tener una abertura de acceso estéril. Al menos un ingrediente activo en la composición es un anticuerpo de acuerdo con la invención. La etiqueta y el folleto adjunto indican que el fármaco está pretendido para
10 ser utilizado para tratar una cierta condición. La etiqueta y/o el folleto adjunto contiene además, instrucciones para administrar la composición del anticuerpo en un paciente, incluyendo, las indicaciones, la frecuencia, la dosis, la ruta de administración, las contraindicaciones y/o las
15 precauciones de tales productos terapéuticos. En una modalidad, el folleto adjunto indica que la composición está pretendida para utilizarse para el tratamiento (sic).

Además, un artículo de fábrica puede comprender, sin limitación, otros productos necesarios para los
20 propósitos comerciales o necesarios para un consumidor, tales como solventes, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

La invención también se relaciona con equipos que pueden utilizarse para varios propósitos, por ejemplo, para
25 valorar la capacidad para destruir las células T que portan

el TCR de la familia TRBV9, para la purificación o inmunoprecipitación del receptor TRBV9 de las células. Para el aislamiento y la purificación, el equipo puede comprender un anticuerpo acoplado a gránulos (por ejemplo, gránulos de sefarosa). El equipo comprende un recipiente, una etiqueta y un folleto adjunto.

Uso para el Diagnóstico

Los anticuerpos de la invención también se utilizan para propósitos de diagnóstico (por ejemplo, *in vitro*, *ex vivo*). Por ejemplo, un anticuerpo puede utilizarse para detectar o medir el nivel de los linfocitos T que comprende el TCR de la familia TRBV9 en las muestras obtenidas de un paciente (por ejemplo, muestra de tejido o una muestra de un fluido corporal, tal como un exudado inflamatorio, sangre, fluido intestinal, saliva u orina). Los métodos adecuados para la detección y medición incluyen inmunoensayos, tales como citometría de flujo, ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), ensayo quimioluminiscente, radioinmunoensayo e inmunohistología. La invención incluye además, equipos, por ejemplo, equipos de diagnóstico que comprenden los anticuerpos descritos en el presente documento.

Con el fin de que esta invención pueda entenderse mejor, se exponen los siguientes ejemplos. Estos ejemplos

son para propósitos de ilustración únicamente y no deben interpretarse como que limitan el alcance de la invención de ninguna manera.

5 Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patentes citadas en esta especificación se incorporan en el presente documento como referencia. Aunque la invención anterior se ha descrito en algún detalle a manera de ilustración y ejemplo con el fin de evitar la interpretación ambigua, será bastante claro para aquellos
10 con experiencia en la técnica, basándose en las ideas descritas en esta invención, que pueden hacerse ciertos cambios y modificaciones sin desviarse de la esencia o alcance de las modalidades anexas.

15 **Sección Experimental**

Ejemplo 1. Producción y purificación del anticuerpo

Los ácidos nucleicos (SEQ ID NO: 10, 12, 14, 16, 18) que codifican los dominios variables de las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo, se obtuvieron
20 amplificando fragmentos de ADN utilizando cebadores que se superponen y polimerasa Q5 de alta fidelidad (NEB, EUA). Los ácidos nucleicos obtenidos se purificaron en columnas de Quagen (Alemania) utilizando un equipo de reactivos (# 28104) y se clonaron de manera orientada en los vectores
25 pFuse comercialmente disponibles que comprenden las

regiones constantes de los genes de la cadena pesada (IgG1) y ligera (kappa) humanas (Invivogen, EUA). Las secuencias de los fragmentos clonados se confirmaron mediante secuenciamiento, utilizando el método de Sanger.

5 Como resultado, se obtuvieron los plásmidos que comprenden las secuencias codificantes para cuatro variantes de la cadena pesada del anticuerpo:

 HV de anti-TRBV9-1, el nucleótido y la secuencia de aminoácidos de la cual, se muestran en la SEQ ID NO: 20
10 y 21;

 HV de anti-TRBV9-2, el nucleótido y la secuencia de aminoácidos de la cual, se muestran en la SEQ ID NO: 22
 y 23;

 HV de anti-TRBV9-3, el nucleótido y la secuencia de aminoácidos de la cual, se muestran en la SEQ ID NO: 24
15 y 25;

 HV de anti-TRBV9-3, el nucleótido y la secuencia de aminoácidos de la cual, se muestran en la SEQ ID NO: 26
 y 27;

20 y para una variante de la cadena ligera del anticuerpo, LV de anti-TRBV9, (SEQ ID NO: 28 y 29).

 El grado de humanización de la cadena pesada del anticuerpo es de 72%, y aquél de la cadena ligera es de 69%.

25 Para los anticuerpos obtenidos, los plásmidos se

transfectaron en la línea de células en suspensión HEK293F. El reactivo 293fectine (Thermo Fisher Scientific, EUA # 1234701) se utilizó para la transfección. 30 millones de células se colocaron en cada 30 ml de medio FreeStyle, 30
5 µg del plásmido pFuse que codifica una de las variantes de la cadena pesada del anticuerpo, y 30 µg del plásmido pFuse que codifica la cadena ligera del anticuerpo y 60 µl de 293fectine (Thermo Fisher Scientific, EUA # 12347019) se agregaron a las mismas. Los plásmidos que comprenden las
10 cadenas pesadas y ligeras de la inmunoglobulina se disolvieron en agua probada para el contenido de endotoxinas (Quagen, EUA).

Las mezclas de reacción resultantes se incubaron a 37°C en un agitador durante una semana. Una semana después,
15 el sobrenadante celular se recolectó, el cual se utilizó para aislar los anticuerpos. Para este fin, el sobrenadante se centrifugó tres veces a 10,000 rpm durante 10 minutos, y la fracción del líquido se purificó utilizando una columna HiTrap PrG de 1 ml (Thermo Fisher Scientific, EUA). Para la
20 elución, se utilizó un amortiguador de glicina 0.1 M, pH 2.5, en HCl. La calidad del aislamiento se evaluó utilizando PAGE al 12% bajo condiciones desnaturalizantes. La cuantificación se realizó mediante la medición en un microespectrofotómetro NanoDrop2000 a 280A. El producto
25 resultante se almacenó a +4°C.

La Tabla 1 muestra las características de las proteínas aisladas.

Tabla 1. Características de los anticuerpos

Nombre	Peso molecular (Teórico), kDa	Punto isoelectrico	Coeficiente de extinción	Pureza de la proteína, %	Concentración de la proteína, mg/ml	Absorción a 400 nm, 1 = 1 cm
TRBV9-1	146.3	8.35	1.52	98.3	2.58	0.005
TRBV9-2	146.5	8.35	1.52	98.7	1.91	0.003
TRBV9-3	146.5	8.35	1.52	97.8	1.83	0.003
TRBV9-4	146.5	8.35	1.52	98.9	1.56	0.004

La afinidad de los anticuerpos anti-TRBV9 se midió utilizando un instrumento OctetRed 96 (de ForteBio). Los antígenos (Tabla 1) se inmovilizaron de manera no específica en la superficie de los sensores de segunda generación reactivos a la amina (de AR2G), de acuerdo con el protocolo estándar descrito en el manual del fabricante, con respecto a la preparación e inmovilización de los sensores AR2G. El análisis se realizó a 30°C utilizando solución salina amortiguada con fosfato (PBS), que comprende 0.1% de Tween-20 y 0.1% de BSA como el amortiguador de trabajo. La afinidad de la unión de los anticuerpos anti-TRBV9 se analizó utilizando un amortiguador de trabajo de una concentración de 126 nM a 2 nM, con un incremento de 2. Las curvas de la unión, después de sustraer una señal de referencia, se analizaron

utilizando el programa Octet Data Analysis (Versión 7.0), de acuerdo con el procedimiento estándar, y utilizando un modelo de interacción 1:1. Los resultados se resumen en la Tabla 2.

5

Tabla 2. Evaluación de la afinidad del anticuerpo

	Antígeno: TRBV9+TRAV26				Antígeno: TRBV9+TRAV38			
	kD, M	kon, 1/Ms	kdis, 1/s	R2	kD, M	kon, 1/Ms	kdis, 1/s	R2
TRBV9-1	2.20E-10	5.15E+05	1.13E-04	0.9915	4.14E-10	4.41E+05	1.83E-04	0.9815
	2.78E-10	6.58E+05	1.83E-04	0.99	3.65E-10	5.62E+05	2.05E-04	0.9776
	2.04E-10	5.59E+05	1.14E-04	0.9841	5.29E-10	3.71E+05	1.96E-04	0.9877
TRBV9-2	1.35E-11	4.47E+05	6.02E-06	0.9905	<1.0E-12	3.97E+05	<1.0E-07	0.9772
	<1.0E-12	3.81E+05	<1.0E-07	0.9861	<1.0E-12	2.89E+05	<1.0E-07	0.9894
TRBV9-3	3.19E-10	2.87E+05	9.16E-05	0.9991	3.11E-10	3.09E+05	9.61E-05	0.9942
	5.82E-10	1.68E+05	9.80E-05	0.9998	4.00E-10	2.29E+05	9.16E-05	0.9962
TRBV9-4	<1.0E-12	8.65E+05	<1.0E-07	0.9381	<1.0E-12	7.13E+05	<1.0E-07	0.9058
	<1.0E-12	5.79E+05	<1.0E-07	0.9546	<1.0E-12	4.76E+05	<1.0E-07	0.9512

10

15

No se observaron interacciones con los anticuerpos cuando se utilizan los antígenos TRBV7+TRAV38. Los anticuerpos TRBV9-2 y TRBV9-4 exhibieron las mejores características.

20

Ejemplo 2. Uso de los anticuerpos monoclonales anti-TRBV9 para marcar los linfocitos T que expresan la cadena beta del TCR que pertenece a la familia TRBV9.

25

Los anticuerpos monoclonales (anti-TRBV9-1, anti-TRBV9-2, anti-TRBV9-3, anti-TRBV9-4, caracterizados en la secuencia de la CDR3 de la cadena pesada) se produjeron

como se describió en el Ejemplo 1. Para visualizar los anticuerpos, se marcaron con fluoresceína utilizando el reactivo de isotiocianato de fluoresceína (Sigma, EUA), de acuerdo con el protocolo del fabricante. La cantidad de fluoróforos que reaccionó con las moléculas del anticuerpo se controló mediante la relación del espectro de absorción a las longitudes de onda de 495/280 nm. Los anticuerpos marcados se utilizaron para detectar los linfocitos T que expresan la cadena beta del TCR de la familia TRBV9 en la fracción mononuclear de la sangre humana.

La sangre periférica de 5 donadores sanos se utilizó para obtener esta fracción. La sangre se recolectó en tubos Vacuette con EDTA (2x9 ml cada uno), la fracción mononuclear se aisló de acuerdo con el procedimiento estándar descrito en (Kovalchuk L. V. et al. Immunology: Workshop - 2010. - 176 p.). Después del aislamiento, las células se transfirieron a solución salina amortiguada con fosfato (PBS) que comprende 0.5% de seroalbúmina bovina (BSA) y EDTA 2 mM. El número total de células y la viabilidad de las mismas se determinó mediante el método de tinción con azul de tripano, como se describe por Lang N. R. (Stimulation of lymphocytes M.: Medicine, 1976.-288 p.).

Para marcar los linfocitos T, los anticuerpos anti-TRBV9-1, anti-TRBV9-2, anti-TRBV9-3, anti-TRBV9-4 en el amortiguador de PBS suplementado con 0.5% de

seroalbúmina bovina (BSA) y EDTA 2 Mm, a una concentración final de 5 ng/μl y 0.5 ng/μl, así como un anticuerpo monoclonal contra CD3-eFluor405 ((clona OKT3, eBioscience)), a una concentración recomendada por el fabricante, se agregaron en cada prueba a una alícuota de la fracción mononuclear, cada una que comprende 500,000 células (por prueba).

Las mezclas de reacción resultantes que tienen un volumen de 50 μl de PBS suplementado con 0.5% de BSA, EDTA 2 mM, se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos, después de lo cual, las células se lavaron con amortiguador de PBS suplementado con 0.5% de BSA, EDTA 2 mM, y los resultados de la tinción se analizaron mediante citometría de flujo (FACSARIA III, EUA, Figura 1-4). Se mostró que todas las variantes resultantes de los anticuerpos monoclonales, reconocen de manera específica la fracción de las células positivas CD3+. Sin embargo, la variante TRBV9-2 mostró la tinción más estable, que fue 2.9% de la fracción CD3-positiva, a ambas concentraciones del anticuerpo de 5 ng/μl y 0.5 ng/μl. Mientras que las otras variantes del anticuerpo (anti-TRBV9-2, anti-TRBV9-3, anti-TRBV9-4) mostraron una tinción de una proporción diferente de los linfocitos TRBV9+ a las mismas concentraciones. También, la especificidad de anti-TRBV9-2 se determinó por la ausencia de las células CD-negativas no

específicas, teñidas de manera débil, que están presentes cuando se utilizan otras variantes, y mediante una separación significativa de la población celular específica de otros linfocitos CD3-positivos siendo negativa para TRBV9.

Así, se encontró que la segunda variante (anti-TRBV9-2) exhibe la tinción más efectiva y altamente específica de los linfocitos T TRBV9+. Este anticuerpo puede utilizarse para propósitos de diagnóstico para la detección de los linfocitos T TRBV9+ a una concentración de 0.6 ng/ μ l.

Para valorar la especificidad de los anticuerpos anti-TRBV9-1, anti-TRBV9-2, anti-TRBV9-3, anti-TRBV9-4, las fracciones de la sangre mononuclear obtenidas como se describió anteriormente, de 5 muestras de sangre periférica, se tiñeron con el anticuerpo anti-TRBV9-FITC y el anticuerpo anti-CD3-eFluor450 (eBioscience, EUA) como se describió anteriormente, utilizando las siguientes relaciones:

5 μ l (1 μ g) de anti-CD3-eFluor 450 (eBioscience, EUA) y 30 ng (0.5 ng/ μ l) de anti-TRBV9-2 FITC se agregaron a 3 millones de células de la fracción de la sangre mononuclear. Las mezclas de reacción se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos, las células se lavaron con amortiguador de PBS suplementado con 0.5% de BSA

y se clasificaron en un clasificador celular (FACSARIA III, EUA) para aislar una población de células CD3+TRBV9+, así como células CD3+TRBV9-. La calidad de la clasificación se controló reclasificando la población CD3+TRBV9+,
5 reclasificación la cual mostró un enriquecimiento del 95% de la población de células objetivo.

Las fracciones celulares obtenidas se colocaron en amortiguador RLT (Quagen, Alemania), el ARN se aisló de las mismas utilizando un miniequipo RNAeasy Quiagen equipo del
10 reactivo #217004 (Quagen), de acuerdo con el protocolo del fabricante. El ADNc se sintetizó en la plantilla del ARN aislado, los fragmentos de la cadena beta del receptor T se amplificaron de acuerdo con el protocolo descrito en Britanova et al (J Immunol, 2016, 196(12) 5005-5013)
15 utilizando el equipo de síntesis de ADNc Mint (Eurogen, Rusia). Los adaptadores Illumina (EUA) se ligaron a los amplicones producidos, el secuenciamiento se realizó en una plataforma MiSeq Illumina de acuerdo con el protocolo del fabricante del secuenciador. Los datos del secuenciamiento
20 se analizaron utilizando el programa MiGEC, MiXCR y VDJtools, disponible en la Internet en <https://milaboratory.com>. El análisis de los datos mostró que 90% de las secuencias de la fracción CD3+TRBV9+ pertenecían a la familia del gen del segmento variable de la
25 cadena beta de TRBV9. Al mismo tiempo, no se encontraron

fragmentos que contuvieran la secuencia del segmento variable de TRBV9 en la fracción CD3+TRBV9-. Así, anti-TRBV9-1, anti-TRBV9-2, anti-TRBV9-3, anti-TRBV9-4, se unen de manera específica a la cadena beta de la familia TRBV9.

5

Ejemplo 3. Actividad funcional de los anticuerpos

Los anticuerpos monoclonales (anti-TRBV9-1, anti-TRBV9-2, anti-TRBV9-3, anti-TRBV9-4, caracterizados en la secuencia de la CDR3 de la cadena pesada) se obtuvieron como se describió en el Ejemplo 1. La fracción mononuclear de la sangre humana se obtuvo como se describió en el Ejemplo 2.

Además, las células citolíticas naturales se aislaron de una porción de la fracción mononuclear utilizando el equipo del reactivo para el aislamiento de las células NK humanas # 130-092-657 (Miltenyi biotec, EUA). Se utilizó el protocolo del fabricante. La calidad del aislamiento de las células NK se valoró mediante citofluometría (BD FACSARIA III, EUA) utilizando los anticuerpos marcados CD16-FITC, CD56-PE, CD3-VioBlue. El enriquecimiento con las células NK fue de 85-95%.

Para valorar la citotoxicidad, los anticuerpos (anti-TRBV9-1, anti-TRBV9-2, anti-TRBV9-3, o anti-TRBV9-4) se agregaron a una alícuota de la fracción mononuclear que comprende 1×10^6 células a una concentración final de 5

µg/ml. Se utilizaron los anticuerpos Remicade a la misma concentración que los anticuerpos anti-TRBV9 como un control negativo. No se agregaron anticuerpos a la alícuota de las células de control (control positivo). También, se
5 agregaron 10^5 células NK a todas las mezclas de reacción. El volumen final de la reacción fue de 100 µl.

Las mezclas de reacción se incubaron a temperatura ambiente durante una hora, las células se lavaron a continuación varias veces para eliminar los
10 anticuerpos y se distribuyeron en los pozos de una placa de fondo redondo, de 96 pozos, en una mesa.

Después de 6 días, las células se recolectaron de los pozos y se utilizaron para los análisis inmunofenotípicos utilizando citometría de flujo. Los
15 siguientes anticuerpos se utilizaron para detectar los linfocitos T: anti-CD3-eFluor450 (clona OKT3, eBioscience); anti-CD8-PC7 (clona SFCI21Thy2D3, Beckman Coulter, EUA); los anticuerpos resultantes son anti-TRBV9-1,2,3,4 marcados con Fitc. Después de la tinción, las células se lavaron y
20 analizaron en un instrumento BD FACSARIA III. No se detectaron linfocitos T CD3+TRBV9+ en las muestras incubadas con anti-TRBV9, los anticuerpos de la presente invención. En contraste, los linfocitos T doble positivos CD3+TRBV9+ se detectan todavía en la muestra de control,
25 sin anticuerpo anti-TRBV9 ("control cero"), así como con

los anticuerpos terapéuticos Remicade, hecho el cual confirma la eliminación específica de las células T TRBV9+ después de la adición de los anticuerpos contra TRBV9. La Figura 5 muestra un resultado típico de la citometría de flujo. En un control negativo adicional, en donde se utilizaron anticuerpos anti-CD6 no citotóxicos en lugar de anti-TRBV9, los anticuerpos de la presente invención, no se observaron cambios en la población CD3+CD6+ objetivo, en comparación con el "control cero". Esto indica que no se observa la selección del epitopo por los anticuerpos no marcados en el Día 6, y confirma la capacidad de los anticuerpos anti-TRBV9 para eliminar las células que portan el TCR de la familia TRBV9.

15 ***Ejemplo 4. Diseño de la línea celular estable***

Una línea celular estable que produce el anticuerpo monoclonal anti-TRBV9-2 se obtuvo transfectando una línea celular CHO-S en suspensión con constructos del vector que comprendieron la relación óptima de cadenas ligeras y pesadas del anticuerpo. Las líneas clonales que mantienen un alto nivel (más de 100 mg/L) se obtuvieron utilizando la plataforma robótica ClonePix (Molecular Devices). La productividad de las clonas seleccionadas se analizó mediante un sistema robótico automatizado Biomek FX (Beckman Coulter), y el sistema analítico Octet RED96 (Pall

Life Sciences). El productor se cultivó utilizando medio libre de suero que no contiene proteínas derivadas de animales. El producto BCD085 para los estudios preclínicos se produjo en un fermentador de 200 L como el biorreactor de uso único HyClone (Thermoscientific).

Ejemplo 5. Obtención de una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de la invención

Los componentes de la composición farmacéutica se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Concentraciones de los componentes de la composición farmacéutica

Componente	Concentración
Anticuerpo anti-TRBV9-2	10-50 mg/ml
Amortiguador de citrato 10 mM a pH	6.0-7.0
Cloruro de sodio	50-150 mM
Sacarosa, trehalosa	0.3-0.5%
Agua para inyecciones	Hasta 1 ml.

Ejemplo 6. Equipo que comprende la composición farmacéutica con anticuerpos

Para producir los equipos con una forma de dosificación que comprende una composición del anticuerpo anti-TRBV9-2, la composición farmacéutica preparada de acuerdo con el Ejemplo 5 se sella en ampollitas o jeringas

de 1 ml, bajo condiciones estériles, etiquetadas y empacadas en recipientes de plástico o de cartón.

También, se incluye un folleto adjunto en el recipiente de la ampolla.

5

Ejemplo 7. Variantes de los anticuerpos de acuerdo con la invención

Las secuencias de HV anti-TRBV9-1 mutante se obtuvieron mediante mutagénesis dirigida al sitio
10 utilizando "ampliación de la superposición" de los productos de la PCR, como se describe por Wurch et al., Methods in Molecular Biology. 12 (9), 653-657 (2004). Se utilizó la polimerasa de alta fidelidad Q5 (NEB, EUA) para la PCR, de acuerdo con los lineamientos del fabricante.
15 Después de la amplificación, los fragmentos obtenidos se purificaron mediante electroforesis sobre gel de agarosa al 1% y la extracción adicional. Los fragmentos de ADN aislados en el gel, que comprenden las mutaciones, se combinaron en un constructo completo mediante PCR con
20 ampliación de la superposición (desnaturalización a 95°C durante 12 segundos; recocido a 55°C durante 2 minutos; extensión a 72°C durante 1 minuto, 8 ciclos de PCR). Este método supone que los fragmentos, que están presentes en la mezcla de reacción, que tienen regiones complementarias
25 unos con otros, se utilizan como una plantilla y un

cebador. Todo el constructo se amplificó mediante PCR estándar con la adición de los cebadores complementarios a los extremos del fragmento amplificado. Los ácidos nucleicos obtenidos se purificaron en columnas Quagen (Alemania) utilizando un equipo del reactivo (# 28104) y se clonaron en el vector pFuse, como se describió en el Ejemplo 1. Las secuencias del ADN mutante se verificaron mediante el secuenciamiento de acuerdo con el método de Sanger. El nucleótido y la secuencia de aminoácidos de los dominios variables resultantes se muestran como sigue: variante 1 - en la SEQ ID NO: 30 y la SEQ ID NO: 31; variante 2 - en la SEQ ID NO: 32 y la SEQ ID NO: 33. La capacidad de los anticuerpos mutantes para unirse a los linfocitos T que expresan la cadena beta del TCR que pertenece a la familia TRBV9 se validó como se describió en el Ejemplo 2. Se mostró que las sustituciones introducidas no afectan la especificidad de la unión.

REIVINDICACIONES:

1. Un anticuerpo monoclonal o fragmento que se une al antígeno del mismo, que se une de manera específica a la región de la cadena beta de la familia TRBV9 del receptor de las células T humanas, que comprende:

1) un dominio variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de la HCDR 1-3, en donde

la HCDR 1 comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1,

la HCDR 2 comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2,

la HCDR 3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo de la SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6;

2) un dominio variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la LCDR 1-3, en donde

la LCDR 1 comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7,

la LCDR 2 comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8,

la LCDR 3 comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.

2. El anticuerpo monoclonal o fragmento que se une al antígeno del mismo, según la reivindicación 1, en donde el dominio variable de la cadena pesada comprende una

secuencia de aminoácidos que es al menos 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo de la SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19.

3. El anticuerpo monoclonal o fragmento que se une al antígeno del mismo, según la reivindicación 2, en donde el dominio variable de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo de la SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19.

4. El anticuerpo monoclonal o fragmento que se une al antígeno del mismo, según la reivindicación 1, en donde el dominio variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 11.

5. El anticuerpo monoclonal o fragmento que se une al antígeno del mismo, según la reivindicación 4, en donde el dominio variable de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11.

6. El anticuerpo monoclonal o fragmento que se une al antígeno del mismo, según la reivindicación 1, que comprende:

1) una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 90% idéntica a una secuencia seleccionada del grupo de la SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27;

2) una cadena ligera que tiene una secuencia de

aminoácidos que es al menos 90% idéntica a una secuencia de la SEQ ID NO: 29.

7. El anticuerpo monoclonal según la reivindicación 6, que comprende:

5 1) una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo de la SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27;

 2) una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29.

10 8. El anticuerpo monoclonal según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el anticuerpo es un anticuerpo de IgG de longitud completa.

 9. El anticuerpo monoclonal según la reivindicación 8, en donde el anticuerpo se relaciona con un
15 isotipo humano seleccionado del grupo de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4.

 10. Un ácido nucleico que codifica un anticuerpo o fragmento que se une al antígeno del mismo, según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que se une de manera específica a la región de la cadena beta de la
20 familia TRBV9 del receptor de las células T humanas.

 11. Un vector de expresión que comprende el ácido nucleico según la reivindicación 10.

 12. El método para obtener una célula hospedera para producir el anticuerpo o fragmento que se une al
25 antígeno del mismo, según cualquiera de las

reivindicaciones 1-9, incluyendo la transformación de la célula con un vector según la reivindicación 1, que comprende el ácido nucleico según la reivindicación 10.

13. Una célula hospedera para obtener el anticuerpo o fragmento que se une al antígeno del mismo, según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que comprende el ácido nucleico según la reivindicación 10.

14. El método para obtener el anticuerpo o fragmento que se une al antígeno del mismo, según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que consiste en el cultivo de la célula hospedera según la reivindicación 13, en un medio de cultivo bajo condiciones para asegurar la producción del anticuerpo especificado, seguido por el aislamiento y purificación del anticuerpo obtenido.

15. Una composición farmacéutica para la prevención o el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por la región de la cadena beta de la familia TRBV9 del receptor de las células T humanas, que comprende una cantidad efectiva del anticuerpo o fragmento que se une al antígeno del mismo, según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en combinación con uno o varios excipientes farmacéuticamente aceptables.

16. La composición farmacéutica según la reivindicación 15, en donde la enfermedad o trastorno especificado se selecciona del grupo de espondilitis

anquilosante, enfermedad celiaca, leucemia de las células T, linfoma de las células T.

17. La composición farmacéutica para la prevención o el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por el receptor de las células T humanas, que porta la cadena beta de la familia TRBV9, que comprende la cantidad efectiva del anticuerpo o fragmento que se une al antígeno del mismo, según cualquiera de las reivindicaciones 1-9 y, en una cantidad efectiva, al menos otro compuesto terapéuticamente activo.

18. La composición farmacéutica según la reivindicación 17, en donde la enfermedad o trastorno especificado se selecciona del grupo de espondilitis anquilosante, enfermedad celiaca, leucemia de las células T, linfoma de las células T.

19. La composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 17-18, en donde el otro compuesto terapéuticamente activo se selecciona de una molécula pequeña, un anticuerpo u hormonas de esteroides.

20. Un método para inhibir la actividad biológica del receptor de las células T, la cadena beta del cual se relaciona con la familia TRBV9, en un sujeto en necesidad de tal inhibición, que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva del anticuerpo o fragmento que se une al antígeno del mismo, según cualquiera de las

reivindicaciones 1-9.

21. Un método para tratar una enfermedad o trastorno mediado por receptor de las células T humanas, que porta la cadena beta de la familia TRBV9, que comprende
5 administrar a un sujeto en necesidad de tal tratamiento, un anticuerpo o fragmento que se une al antígeno del mismo, según cualquiera de las reivindicaciones 1-9 o la composición farmacéutica según la reivindicación 15, en una cantidad terapéuticamente efectiva.

10 22. El método para tratar una enfermedad o trastorno según la reivindicación 21, en donde la enfermedad o trastorno se selecciona del grupo de espondilitis anquilosante, enfermedad celiaca, leucemia de las células T, linfoma de las células T.

15 23. Un uso de los anticuerpos o fragmentos que se unen al antígeno de los mismos, según cualquiera de las reivindicaciones 1-9 o la composición farmacéutica según la reivindicación 15 para el tratamiento de un sujeto en necesidad de tal tratamiento, una enfermedad o trastorno
20 mediado por receptor de las células T humanas que porta la cadena beta de la familia TRBV9.

24. El uso según la reivindicación 23, en donde la enfermedad se selecciona del grupo de espondilitis anquilosante, enfermedad celiaca, leucemia de las células
25 T, linfoma de las células T.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

La invención se relaciona con anticuerpos monoclonales que se unen de manera específica a la familia TRBV9 del receptor de las células T humanas. La invención
5 también se relaciona con un ácido nucleico que codifica el anticuerpo o con un fragmento que se une al antígeno del mismo, a un vector de expresión, con un método para producir el anticuerpo, y con el uso del anticuerpo para tratar las enfermedades o trastornos asociados con la
10 familia del receptor de las células T humanas. La invención está dirigida hacia la producción de anticuerpos que pueden utilizarse para eliminar las células T que portan los receptores de las células T de la familia TRBV9, en particular, para tratar la espondilitis anquilosante, la
15 enfermedad celiaca y los cánceres de la sangre, en la patogénesis de las cuales, están involucrados los receptores de las células T de la familia TRBV9.