

ANTICUERPOS ANTI-KLK7, ANTICUERPOS ANTI-KLK5, ANTICUERPOS MULTIESPECÍFICOS ANTI-KLK5/KLK7 Y MÉTODOS DE USO

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[001] La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la solicitud provisional estadounidense N.º 62/901.990, presentada el 18 de septiembre de 2019, que se incorpora en la presente por referencia en su totalidad para cualquier fin.

CAMPO

[002] La presente invención se refiere a anticuerpos anti-KLK7, anticuerpos anti-KLK5, anticuerpos multiespecíficos anti-KLK5/KLK7 y métodos de uso de estos.

ANTECEDENTES

[003] Las peptidasas relacionadas con calicreína (KLK) humanas son serina proteasas tipo (quimo)-tripsina que se expresan en una variedad de tejidos tales como próstata, ovario, mama, testículo, cerebro y piel. Las KLK pertenecen a un subgrupo de la familia de serina proteasas tipo quimotripsina S1A del clan PA(S). Los 15 genes de KLK humana se ubican en el cromosoma 19q13.4 y constituyen el conjunto más grande de serina proteasas contiguas en el genoma humano. Estos genes, en general compuestos por cinco exones codificantes y, en algunos casos, uno o dos exones no codificantes 5', codifican las peptidasas relacionadas con calicreína KLK1 a KLK15. Todos los genes de KLK codifican preproteínas monocatenarias que contienen un dominio catalítico tipo quimotripsina o tripsina de los residuos 224-237 con una identidad de secuencia de aminoácidos de aproximadamente 40 % entre KLK4 a KLK15. KLK1 y sus homólogos cercanos KLK2 y KLK3 forman un clado en sí mismos, KLK4, 5 y 7 pertenecen a otro subgrupo, mientras que KLK6 tiene mayor similitud con KLK13 y KLK14. Ver Debela *et al.*, Biol Chem 389, 623-632 (2008).

[004] KLK5 es una serina proteasa tipo tripsina secretada que pareciera expresarse de manera más abundante en la piel humana, específicamente en las capas espinosa superior y granular de la piel, en donde los queratinocitos se someten a diferenciación terminal y se transforman en estructuras aplanadas tipo ladrillo que forman la capa córnea, la capa epidérmica más externa y la barrera al entorno externo. Ver Debela *et al.*, J Mol Biol, 373, 1017-1031 (2007); y Tan *et al.*, J Med Chem. 22 de enero de 2015; 58(2):598-612 (2014). KLK7 es una proteasa serina tipo quimotripsina que también se expresa en la piel. Se describe que KLK5 cumple funciones patológicas en trastornos

de la piel, tales como síndrome de Netherton. Ver Furio *et al.*, PLOS Genet 11(9), e1005389 (2015). El síndrome de Netherton es producto de mutaciones de pérdida de función en el gen SPINK5, que codifica el inhibidor de la serina proteasa tipo Kazal 5 (SPINK5). Ver Descargues *et al.*, Nat Genet. 2005 Jan;37(1):56-65 (2004). SPINK5 demostró inhibir diversos miembros de la familia de la serina proteasa KLK (por ejemplo, KLK5 y KLK7). Ver Wang *et al.*, Exp Dermatol. Jul;23(7):524-6 (2014). La ausencia de SPINK5 en el síndrome de Netherton produce actividades de KLK que no se oponen. Se cree que la hiperactividad de KLK5 es un elemento clave en la fisiopatología del síndrome de Netherton puesto que KLK5 es un regulador de proteólisis en la epidermis. La ablación de KLK5 y KLK7 rescata la letalidad del fenotipo tipo síndrome de Netherton. Ver Briot *et al.*, J Exp Med. 11 de mayo;206(5):1135-47 (2009); Furio *et al.*, J Exp Med. 10 de marzo;211(3):499-513 (2014); y Kasperek *et al.*, PLoS Genet. 17 de enero de 2017;13(1):e1006566 (2017). El síndrome de Netherton es una enfermedad sistémica compleja con múltiples efectos para la que, actualmente, no hay tratamiento satisfactorio disponible.

[005] El asma es un trastorno clínicamente heterogéneo asociado a factores de riesgo genéticos y ambientales. Las estimaciones de heredabilidad a partir de estudios gemelares de asma varían de 35 % a 80 %, lo que indica una función importante del riesgo genético. Ver, por ejemplo, Ullemar *et al.*, Allergy 71, 230-238 (2016). Se llevaron a cabo diversos GWAS a gran escala para asma y fenotipos relacionados con asma, y se confirmaron muchos de los locus identificados, tales como aquellos cercanos a los genes ORMDL3, IL13, IL1RL1 y TSLP en múltiples poblaciones de estudio. Ver, por ejemplo, Bonnelykke *et al.*, Nat Genet 46, 51-55 (2014). Estudios recientes identificaron un SNP en el sitio KLK4/5, que ofrece protección contra el riesgo con respecto al nivel bajo de periostina, o asma tipo 2 con niveles de inflamación bajos. En el mismo estudio, se descubrió que los niveles de KLK5 eran elevados en lavado broncoalveolar de pacientes con asma grave, lo que respalda la hipótesis de que KLK5 cumple una función en la obstrucción bronquial y la patogénesis de asma.

[006] A pesar de los avances en el campo de enfermedades tales como el síndrome de Netherton y el asma, aún existe la necesidad de identificar dianas y desarrollar medios que puedan complementar o mejorar la eficacia de los tratamientos existentes.

SÍNTESIS

[007] La invención proporciona anticuerpos anti-KLK7, anticuerpos anti-KLK5, anticuerpos multispecíficos anti-KLK5/KLK7 y métodos de uso de estos.

Forma de realización 1. Un anticuerpo aislado que se une a peptidasa relacionada con calicreína 7 (KLK7) humana, en donde el anticuerpo:

- a) inhibe la escisión mediada por KLK7 humana de un sustrato que comprende la secuencia de aminoácidos RPKPVE-Nval-WRK (SEQ ID NO: 121), en donde Nval es norvalina;
- b) se une a KLK7 humana con una K_D de menos de 10 pM, o menos de 9 pM, o menos de 8 pM, o menos de 7 pM, o menos de 6 pM, o menos de 5 pM según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales;
- c) se une a un epítipo dentro de los aminoácidos R71-N82, K152-S158, y/o Q211-K222 de KLK7 (SEQ ID NO: 4); y/o
- d) se une a un epítipo que comprende uno o más de los aminoácidos H72, P73, G74, S76, Q78, N82, N157, K211 y/o T213 de KLK7 (SEQ ID NO: 4), o un epítipo que comprende uno o más de los aminoácidos H91, P92, G93, S95, Q97, N101, N178, K233 y/o T235 de KLK7, mediante numeración de quimotripsina.

Forma de realización 2. Un anticuerpo que se une a KLK7 humana, en donde el anticuerpo comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.

Forma de realización 3. El anticuerpo de la forma de realización 1, que comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 11, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.

Forma de realización 4. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 3, que es un anticuerpo monoclonal.

Forma de realización 5. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 4, que es un anticuerpo humanizado o quimérico.

Forma de realización 6. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 5, que es un fragmento de anticuerpo que se une a KLK7 humana.

Forma de realización 7. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 6, en donde el anticuerpo se une a KLK7 humana con una K_D de menos de 10 pM, o menos de 9 pM, o menos de 8 pM, o menos de 7 pM, o menos de 6 pM, o menos de 5 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales; y/o se une a KLK7 de *Macaca fascicularis* con una K_D de menos de 10 pM, o menos de 9 pM, o menos de 8 pM, o menos de 7 pM, o menos de 6 pM, o menos de 5 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales.

Forma de realización 8. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 7, en donde la región variable de la cadena pesada comprende una FR1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 123-128, una FR2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 130-133, una FR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135-143, y/o una FR4 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 144-145.

Forma de realización 9. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 8, en donde la región variable de la cadena liviana comprende una FR1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 147-150, una FR2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 152-154, una FR3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 156-158, y/o una FR4 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 160.

Forma de realización 10. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 9, que comprende una secuencia seleccionada de:

(a) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 15-30;

(b) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 31-38; y

(c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b).

Forma de realización 11. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 10, que comprende una secuencia seleccionada de:

(a) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 15-30;

(b) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO:31-38; y

(c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b).

Forma de realización 12. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 11, que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 29 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 32.

Forma de realización 13. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 11, que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 30 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 38.

Forma de realización 14. Un anticuerpo que se une específicamente a KLK7 humana que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 29 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 32.

Forma de realización 15. Un anticuerpo que se une específicamente a KLK7 humana que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 30 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 38.

Forma de realización 16. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 15, en donde el anticuerpo comprende una región constante de la cadena pesada y una región constante de la cadena liviana, en donde la región constante de la cadena pesada comprende una sustitución S183K (numeración EU) y/o una sustitución S183E (numeración EU); y/o la región constante de la cadena liviana comprende una sustitución V133K (numeración EU) y/o una sustitución V133E (numeración EU).

Forma de realización 17. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 16, que es un anticuerpo IgG1 de longitud completa.

Forma de realización 18. El anticuerpo de la forma de realización 17, en donde el anticuerpo comprende una sustitución N297G (numeración EU).

Forma de realización 19. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 16 a 18, en donde el anticuerpo comprende una sustitución M428L (numeración EU) y/o una sustitución N434S (numeración EU).

Forma de realización 20. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 19, en donde el anticuerpo se une a KLK7 humana con una K_D de menos de 20 pM, o menos de 15 pM, o menos de 10 pM, menos de 5 pM, o menos de 3 pM, o menos de 2 pM, o menos de 1 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales.

Forma de realización 21. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 20, en donde el anticuerpo inhibe la actividad de proteasa KLK7 humana con una IC_{50} de menos de 5 nM, o menos de 3 nM, o menos de 2 nM, o menos de 1 nM.

Forma de realización 22. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 21, en donde el anticuerpo se une a KLK7 humana con una K_D de menos de 20 pM, o menos de 15 pM, o menos de 10 pM, menos de 5 pM, o menos de 3 pM, o menos de 2 pM, o menos de 1 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales; y en donde el anticuerpo inhibe la actividad de proteasa KLK7 humana con una IC_{50} de menos de 5 nM, o menos de 3 nM, o menos de 2 nM, o menos de 1 nM.

Forma de realización 23. El anticuerpo de la forma de realización 21 o la forma de realización 22, en donde la inhibición de actividad de proteasa KLK7 humana es la inhibición de escisión mediada por KLK7 humana de un sustrato que comprende la secuencia de aminoácidos RPKPVE-Nval-WRK (SEQ ID NO: 121), en donde Nval es norvalina.

Forma de realización 24. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 23, en donde el anticuerpo es un anticuerpo multiespecífico.

Forma de realización 25. El anticuerpo de la forma de realización 24, que es un anticuerpo biespecífico.

Forma de realización 26. Un anticuerpo que se une específicamente a KLK7 humana, que compite por la unión a KLK7 humana con el anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 25.

Forma de realización 27. El anticuerpo de la forma de realización 26, en donde el anticuerpo:

- a) inhibe la escisión mediada por KLK7 humana de un sustrato que comprende la secuencia de aminoácidos RPKPVE-Nval-WRK (SEQ ID NO: 121), en donde Nval es norvalina con una IC_{50} de menos de 5 nM, o menos de 3 nM, o menos de 2 nM, o menos de 1 nM; y/o
- b) se une a KLK7 humana con una K_D de menos de 10 pM, o menos de 9 pM, o menos de 8 pM, o menos de 7 pM, o menos de 6 pM, o menos de 5 pM,

según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales.

Forma de realización 28. Un ácido nucleico aislado que codifica el anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 27.

Forma de realización 29. Una célula huésped aislada que comprende el ácido nucleico de la forma de realización 28.

Forma de realización 30. Una célula huésped aislada que expresa el anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 27.

Forma de realización 31. Un método para producir un anticuerpo que se une a KLK7 humana que comprende cultivar la célula huésped de la forma de realización 29 o la forma de realización 30 en condiciones adecuadas para la expresión del anticuerpo.

Forma de realización 32. El método de la forma de realización 31, que además comprende recuperar el anticuerpo de la célula huésped.

Forma de realización 33. Un anticuerpo producido mediante el método de la forma de realización 32.

Forma de realización 34. Un anticuerpo que se une a KLK5 humana, en donde el anticuerpo comprende:

a) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 107, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 40 y 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 43 y 44, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 46-49; o

b) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 39 y 107, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 43 y 44, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f)

CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 46-49; o

c) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 39 y 107, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 40 y 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 46-49; o

d) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 39 y 107, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 40 y 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 43 y 44, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 47-49; o

e) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70, y (c) CDR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 71 y 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 75-78; o

f) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 69 y 70, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 75-78; o

g) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 69 y 70, y (c) CDR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 71 y 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 76-78.

Forma de realización 35. El anticuerpo de la forma de realización 34, en donde el anticuerpo comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47.

Forma de realización 36. El anticuerpo de la forma de realización 34, en donde el anticuerpo comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76.

Forma de realización 37. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 36, que es un anticuerpo monoclonal.

Forma de realización 38. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 37, que es un anticuerpo humanizado o quimérico.

Forma de realización 39. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 38, que es un fragmento de anticuerpo que se une a KLK5 humana.

Forma de realización 40. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 39, en donde el anticuerpo se une a KLK5 humana con una K_D de menos de 1 nM, o menos de 500 pM, o menos de 300 pM, o menos de 200 pM, o menos de 100 pM, o menos de 50 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales; y/o se une a KLK5 de *Macaca fascicularis* con una K_D de menos de 1 nM, o menos de 500 pM, o menos de 300 pM, o menos de 200 pM, o menos de 100 pM, o menos de 50 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales.

Forma de realización 41. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 40, en donde la región variable de la cadena pesada comprende:

- a) una FR1 que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 161, una FR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 162-163, una FR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 164, y/o una FR4 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 165; o
- b) una FR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 171, una FR2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 172-173, una FR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 174, y/o una FR4 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 175.

Forma de realización 42. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 41, en donde la región variable de la cadena liviana comprende:

- a) una FR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166, una FR2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 167-168, una FR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 169, y/o una FR4 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 170; o
- b) una FR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 176, una FR2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 177-178, una FR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 179, y/o una FR4 que comprende la secuencia de aminoácidos

de SEQ ID NO: 180.

Forma de realización 43. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 42, que comprende una secuencia seleccionada de:

- a) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106;
- b) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 51 y 54-67; y
- c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b);
- d) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 79 y 81-87;
- e) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 80 y 88-94; y
- f) una secuencia de VH como se definió en (d) y una secuencia de VL como se definió en (e).

Forma de realización 44. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 43, que comprende una secuencia seleccionada de:

- a) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106;
- b) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 51 y 54-67; y
- c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b);
- d) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 79 y 81-87;
- e) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 80 y 88-94; y
- f) una secuencia de VH como se definió en (d) y una secuencia de VL como se definió en (e).

Forma de realización 45. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 44, que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 52 y una secuencia de

VL de SEQ ID NO: 55.

Forma de realización 46. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 44, que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 53 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 62.

Forma de realización 47. Un anticuerpo que se une específicamente a KLK5 humana que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 52 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 55.

Forma de realización 48. Un anticuerpo que se une específicamente a KLK5 humana que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 53 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 62.

Forma de realización 49. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 44, que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 83 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 88.

Forma de realización 50. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 44, que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 87 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 92.

Forma de realización 51. Un anticuerpo que se une específicamente a KLK5 humana que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 83 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 88.

Forma de realización 52. Un anticuerpo que se une específicamente a KLK5 humana que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 87 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 92.

Forma de realización 53. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 52, en donde el anticuerpo comprende una región constante de la cadena pesada y una región constante de la cadena liviana, en donde la región constante de la cadena pesada comprende una sustitución S183K (numeración EU) y/o una sustitución S183E (numeración EU); y/o la región constante de la cadena liviana comprende una sustitución V133K (numeración EU) y/o una sustitución V133E (numeración EU).

Forma de realización 54. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 53, que es un anticuerpo IgG1 de longitud completa.

Forma de realización 55. El anticuerpo de la forma de realización 54, en donde el anticuerpo comprende una sustitución N297G (numeración EU).

Forma de realización 56. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 53 a 55, en donde el anticuerpo comprende una sustitución M428L (numeración EU)

y/o una sustitución N434S (numeración EU).

Forma de realización 57. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 56, en donde el anticuerpo se une a KLK5 humana con una K_D de menos de 60 pM, menos de 30 pM, menos de 20 pM, menos de 10 pM, o menos de 5 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales.

Forma de realización 58. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 57, en donde el anticuerpo inhibe la actividad de proteasa KLK5 humana con una IC50 de menos de 5 nM, o menos de 3 nM, o menos de 2 nM, o menos de 1 nM.

Forma de realización 59. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 58, en donde el anticuerpo se une a KLK5 humana con una K_D de menos de 60 pM, menos de 30 pM, menos de 20 pM, menos de 10 pM, o menos de 5 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales; y en donde el anticuerpo inhibe la actividad de proteasa KLK5 humana con una IC50 de menos de 5 nM, o menos de 3 nM, o menos de 2 nM, o menos de 1 nM.

Forma de realización 60. El anticuerpo de la forma de realización 58 o la forma de realización 59, en donde la inhibición de la actividad de proteasa KLK5 humana es la inhibición de la escisión mediada por KLK5 humana del sustrato Boc-Val-Pro-Arg-AMC.

Forma de realización 61. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 60, en donde el anticuerpo es un anticuerpo multiespecífico.

Forma de realización 62. El anticuerpo de la forma de realización 61, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico.

Forma de realización 63. Un ácido nucleico aislado que codifica el anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 62.

Forma de realización 64. Una célula huésped aislada que comprende el ácido nucleico de la forma de realización 63.

Forma de realización 65. Una célula huésped aislada que expresa el anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 62.

Forma de realización 66. Un método para producir un anticuerpo que se une a KLK5 humana que comprende cultivar la célula huésped de la forma de realización 64 o la forma de realización 65 en condiciones adecuadas para la expresión del anticuerpo.

Forma de realización 67. El método de la forma de realización 66, que además comprende recuperar el anticuerpo de la célula huésped.

Forma de realización 68. Un anticuerpo producido mediante el método de la forma

de realización 67.

Forma de realización 69. Un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.

Forma de realización 70. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 69, en donde el primer dominio de unión es humanizado.

Forma de realización 71. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 69 o la forma de realización 70, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia seleccionada de:

- (a) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 15-30;
- (b) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 31-38; y
- (c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b).

Forma de realización 72. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 71, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia seleccionada de:

- (a) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 15-30;
- (b) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 31-38; y
- (c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b).

Forma de realización 73. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 72, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 29 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 32.

Forma de realización 74. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 72, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 30 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 38.

Forma de realización 75. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 74, en donde el segundo dominio de unión comprende:

a) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 39 y 107, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 40 y 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 43 y 44, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 46-49; o

b) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 69 y 70, y (c) CDR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 71 y 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 75-78.

Forma de realización 76. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 75, en donde el segundo dominio de unión comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47.

Forma de realización 77. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 75, en donde el segundo dominio de unión comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76.

Forma de realización 78. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 77, en donde el segundo dominio de unión es humanizado.

Forma de realización 79. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 75 a 78, en donde el segundo dominio de unión comprende una secuencia seleccionada de:

- a) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106;
- b) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 51 y 54-67; y
- c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b);
- d) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 79 y 81-87;
- e) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 80 y 88-94; y
- f) una secuencia de VH como se definió en (d) y una secuencia de VL como se definió en (e).

Forma de realización 80. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 75 a 78, en donde el segundo dominio de unión comprende una secuencia seleccionada de:

- a) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con

respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 52, 53, 105 y 106;

b) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 54-67; y

c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b);

d) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 81-87;

e) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 88-94; y

f) una secuencia de VH como se definió en (d) y una secuencia de VL como se definió en (e).

Forma de realización 81. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 78, en donde el segundo dominio de unión comprende una secuencia seleccionada de:

a) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106;

b) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 51 y 54-67; y

c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b);

d) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 79 y 81-87;

e) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 80 y 88-94; y

f) una secuencia de VH como se definió en (d) y una secuencia de VL como se definió en (e).

Forma de realización 82. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 78, en donde el segundo dominio de unión comprende una secuencia seleccionada de:

a) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 52, 53, 105 y 106;

b) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 54-67; y

c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se

definió en (b);

d) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 81-87;

e) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 88-94; y

f) una secuencia de VH como se definió en (d) y una secuencia de VL como se definió en (e).

Forma de realización 83. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 79, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de VH de SEQ ID NO: 29 o SEQ ID NO: 30 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 32 o SEQ ID NO: 38, y el segundo dominio de unión comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 52 o SEQ ID NO: 53 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 55 o SEQ ID NO: 62.

Forma de realización 84. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 83, en donde (i) el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de VH de SEQ ID NO: 29 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 32, o una secuencia de aminoácidos de VH de SEQ ID NO: 30 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 38; y (ii) el segundo dominio de unión comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 52 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 55; o una secuencia de VH de SEQ ID NO: 53 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 62.

Forma de realización 85. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 79, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 30 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 38, y el segundo dominio de unión comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 53 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 62.

Forma de realización 86. Un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de dominio variable de la cadena pesada (VH) de SEQ ID NO: 30 y una secuencia de aminoácidos de dominio variable de la cadena liviana (VL) de SEQ ID NO: 38, y el segundo dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de VH de SEQ ID NO: 53 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 62.

Forma de realización 87. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de

realización 69 a 86, en donde el primer dominio de unión comprende un primer dominio variable de la cadena pesada y un primer dominio variable de la cadena liviana, en donde el primer dominio variable de la cadena pesada está ligado a una primera región constante de la cadena pesada y el primer dominio variable de la cadena liviana está ligado a una primera región constante de la cadena liviana; y el segundo dominio de unión comprende un segundo dominio variable de la cadena pesada y un segundo dominio variable de la cadena liviana, en donde el segundo dominio variable de la cadena pesada está ligado a una segunda región constante de la cadena pesada y el segundo dominio variable de la cadena liviana está ligado a una segunda región constante de la cadena liviana.

Forma de realización 88. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 87, en donde la primera región constante de la cadena pesada comprende una mutación de botón y la segunda región constante de la cadena pesada comprende una mutación de ojal; o en donde la primera región constante de la cadena pesada comprende una mutación de ojal y la segunda región constante de la cadena pesada comprende una mutación de botón.

Forma de realización 89. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 88, en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 y en donde la mutación de botón comprende una sustitución T366W.

Forma de realización 90. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 88 o la forma de realización 89, en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 y en donde la mutación de ojal comprende al menos una, al menos dos, o tres sustituciones seleccionadas de T366S, L368A y Y407V.

Forma de realización 91. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 90, en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 y en donde la mutación de ojal comprende las sustituciones T366S, L368A y Y407V.

Forma de realización 92. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 87 a 91, en donde la primera región constante de la cadena pesada y/o la segunda región constante de la cadena pesada comprende una sustitución N297G (numeración EU).

Forma de realización 93. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 92, en donde la primera región constante de la cadena pesada y la segunda región constante de la cadena pesada comprenden, cada una, una sustitución N297G (numeración EU).

Forma de realización 94. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de

realización 87 a 93, en donde:

- a) la primera región constante de la cadena pesada también comprende una sustitución S183K (numeración EU) y la primera región constante de la cadena liviana comprende una sustitución V133E (numeración EU), y la segunda región constante de la cadena pesada también comprende una sustitución S183E (numeración EU) y la segunda región constante de la cadena liviana comprende una sustitución V133K (numeración EU); o
- b) la primera región constante de la cadena pesada también comprende una sustitución S183E (numeración EU) y la primera región constante de la cadena liviana comprende una sustitución V133K (numeración EU), y la segunda región constante de la cadena pesada también comprende una sustitución S183K (numeración EU) y la segunda región constante de la cadena liviana comprende una sustitución V133E (numeración EU).

Forma de realización 95. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 87 a 94, en donde la primera región constante de la cadena pesada y/o la segunda región constante de la cadena pesada también comprende al menos una sustitución seleccionada de M428L y N434S (numeración EU).

Forma de realización 96. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 95, en donde la primera región constante de la cadena pesada y la segunda región constante de la cadena pesada también comprenden, cada una, al menos una sustitución seleccionada de M428L y N434S (numeración EU).

Forma de realización 97. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 96, en donde la primera región constante de la cadena pesada y la segunda región constante de la cadena pesada también comprenden, cada una, las sustituciones M428L y N434S (numeración EU).

Forma de realización 98. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 87 a 97, en donde:

- a) la primera región constante de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 96, 184, 98, 186, 117, 188, 119 y 190, y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103; y la región constante de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 97, 185, 99, 187, 118, 189, 120 y 191, y la segunda región constante de la cadena liviana que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

b) la segunda región constante de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 96, 184, 98, 186, 117, 188, 119 y 190, y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103; y la primera región constante de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 97, 185, 99, 187, 118, 189, 120 y 191, y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104.

Forma de realización 99. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 98, en donde:

a) la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96 o 184 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97 o 185 y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

b) la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98 o 186 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 99 o 187 y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

c) la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96 o 184 y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97 o 185 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

d) la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98 o 186 y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la primera región constante de la cadena pesada comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 99 o 187 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

e) la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 118 o 189 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 117 o 188 y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

f) la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120 o 191 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 119 o 190 y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

g) la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 118 o 189 y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 117 o 188 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

h) la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120 o 191 y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 119 o 190 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104.

Forma de realización 100. Un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 108 o 192, y una secuencia de aminoácidos de la

cadena liviana de SEQ ID NO: 109, y el segundo dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 110 o 193, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 111.

Forma de realización 101. Un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 112 o 194, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 113, y el segundo dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 114 o 195, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 115.

Forma de realización 102. Un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 108 y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 109, y el segundo dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 110 y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 111.

Forma de realización 103. Un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 112 y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 113, y el segundo dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 114 y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 115.

Forma de realización 104. Un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el segundo dominio de unión comprende

- a) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 107, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 40 y 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43 o 44, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 46-49; o

b) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 39 y 107, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 43 y 44, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 46-49; o

c) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39 o 107, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 40 y 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 46-49; o

d) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 39 y 107, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 40 y 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 43 y 44, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 47-49; o

e) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70, y (c) CDR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 71 y 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 75-78; o

f) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 69 y 70, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 75-78; o

g) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 69 y 70, y (c) CDR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 71 y 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 76-78.

Forma de realización 105. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 104, en donde el segundo dominio de unión comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:

43, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47.

Forma de realización 106. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 104, en donde el segundo dominio de unión comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76.

Forma de realización 107. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 104 a 106, en donde el segundo dominio de unión es humanizado.

Forma de realización 108. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 104 a 107, en donde el segundo dominio de unión comprende una secuencia seleccionada de:

- a) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106;
- b) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 51 y 54-67; y
- c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b);
- d) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 79 y 81-87;
- e) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 80 y 88-94; y
- f) una secuencia de VH como se definió en (d) y una secuencia de VL como se definió en (e).

Forma de realización 109. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 104 a 107, en donde el segundo dominio de unión comprende una secuencia seleccionada de:

- a) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 52, 53, 105 y 106;
- b) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 54-67; y
- c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b);
- d) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 81-87;
- e) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 88-94; y
- f) una secuencia de VH como se definió en (d) y una secuencia de VL como se definió en (e).

Forma de realización 110. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 104 a 107, en donde el segundo dominio de unión comprende una secuencia seleccionada de:

- a) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106;
- b) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 51 y 54-67; y
- c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b);
- d) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 79 y 81-87;
- e) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 80 y 88-94; y
- f) una secuencia de VH como se definió en (d) y una secuencia de VL como se definió en (e).

Forma de realización 111. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 104 a 107, en donde el segundo dominio de unión comprende una secuencia seleccionada de:

- a) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 52, 53, 105 y 106;
- b) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 54-67; y

- c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b);
- d) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 81-87;
- e) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 88-94; y
- f) una secuencia de VH como se definió en (d) y una secuencia de VL como se definió en (e).

Forma de realización 112. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 104 a 107, en donde la segunda mitad del anticuerpo de aminoácidos comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 52 o SEQ ID NO: 53 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 55 o SEQ ID NO: 62.

Forma de realización 113. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 112, en donde la segunda mitad del anticuerpo de aminoácidos comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 52 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 55; o una secuencia de VH de SEQ ID NO: 53 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 62.

Forma de realización 114. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 104 a 113, en donde el primer dominio de unión es humanizado.

Forma de realización 115. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 104 a 114, en donde el primer dominio de unión comprende un primer dominio variable de la cadena pesada y un primer dominio variable de la cadena liviana, en donde el primer dominio variable de la cadena pesada está ligado a una primera región constante de la cadena pesada y el primer dominio variable de la cadena liviana está ligado a una primera región constante de la cadena liviana; y el segundo dominio de unión comprende un segundo dominio variable de la cadena pesada y un segundo dominio variable de la cadena liviana, en donde el segundo dominio variable de la cadena pesada está ligado a una segunda región constante de la cadena pesada y el segundo dominio variable de la cadena liviana está ligado a una segunda región constante de la cadena liviana.

Forma de realización 116. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 115, en donde la primera región constante de la cadena pesada comprende una mutación de botón y la segunda región constante de la cadena pesada comprende una mutación de ojal; o en donde la primera región constante de la cadena pesada comprende una mutación de ojal y la segunda región constante de la cadena pesada comprende una

mutación de botón.

Forma de realización 117. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 116, en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 y en donde la mutación de botón comprende una mutación T366W.

Forma de realización 118. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 116 o la forma de realización 117, en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 y en donde la mutación de ojal comprende al menos una, al menos dos, o tres mutaciones seleccionadas de T366S, L368A y Y407V.

Forma de realización 119. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 118, en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 y en donde la mutación de ojal comprende las mutaciones T366S, L368A y Y407V.

Forma de realización 120. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 115 a 119, en donde la primera región constante de la cadena pesada y/o la segunda región constante de la cadena pesada comprende una sustitución N297G (numeración EU).

Forma de realización 121. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 120, en donde la primera región constante de la cadena pesada y la segunda región constante de la cadena pesada comprenden, cada una, una sustitución N297G (numeración EU).

Forma de realización 122. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 115 a 121, en donde:

- a) la primera región constante de la cadena pesada también comprende una sustitución S183K (numeración EU) y la primera región constante de la cadena liviana comprende una sustitución V133E (numeración EU), y la segunda región constante de la cadena pesada también comprende una sustitución S183E (numeración EU) y la segunda región constante de la cadena liviana comprende una sustitución V133K (numeración EU); o
- b) la primera región constante de la cadena pesada también comprende una sustitución S183E (numeración EU) y la primera región constante de la cadena liviana comprende una sustitución V133K (numeración EU), y la segunda región constante de la cadena pesada también comprende una sustitución S183K (numeración EU) y la segunda región constante de la cadena liviana comprende una sustitución V133E (numeración EU).

Forma de realización 123. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 115 a 122, en donde la primera región constante de la cadena pesada y/o

la segunda región constante de la cadena pesada también comprende al menos una sustitución seleccionada de M428L y N434S (numeración EU).

Forma de realización 124. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 123, en donde la primera región constante de la cadena pesada y la segunda región constante de la cadena pesada también comprenden, cada una, al menos una sustitución seleccionada de M428L y N434S (numeración EU).

Forma de realización 125. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 124, en donde la primera región constante de la cadena pesada y la segunda región constante de la cadena pesada también comprenden, cada una, las sustituciones M428L y N434S (numeración EU).

Forma de realización 126. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 115 a 125, en donde:

- a) la primera región constante de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 96, 184, 98, 186, 117, 188, 119 y 190, y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103; y la región constante de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 97, 185, 99, 187, 118, 189, 120 y 191, y la segunda región constante de la cadena liviana que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o
- b) la segunda región constante de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 96, 184, 98, 186, 117, 188, 119 y 190, y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103; y la primera región constante de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 97, 185, 99, 187, 118, 189, 120 y 191, y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104.

Forma de realización 127. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 126, en donde:

- a) la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96 o 184 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97 o 185 y la segunda región

constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

b) la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98 o 186 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 99 o 187 y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

c) la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96 o 184 y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97 o 185 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

d) la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98 o 186 y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 99 o 187 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

e) la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 118 o 189 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 117 o 188 y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

f) la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120 o 191 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 119 o 190 y la segunda región constante de la

cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

g) la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 118 o 189 y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 117 o 188 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; o

h) la segunda región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120 o 191 y la segunda región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, y la primera región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 119 o 190 y la primera región constante de la cadena liviana comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104.

Forma de realización 128. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 127, en donde el anticuerpo se une a KLK5 humana con una K_D de menos de 60 pM, menos de 30 pM, menos de 20 pM, menos de 10 pM, o menos de 5 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales.

Forma de realización 129. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 128, en donde el anticuerpo inhibe la actividad de proteasa KLK5 humana con una IC_{50} de menos de 5 nM, o menos de 3 nM, o menos de 2 nM, o menos de 1 nM.

Forma de realización 130. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 69 a 129, en donde el anticuerpo se une a KLK5 humana con una K_D de menos de 60 pM, menos de 30 pM, menos de 20 pM, menos de 10 pM, o menos de 5 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales; y en donde el anticuerpo inhibe la actividad de proteasa KLK5 humana con una IC_{50} de menos de 5 nM, o menos de 3 nM, o menos de 2 nM, o menos de 1 nM.

Forma de realización 131. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 129 o la forma de realización 130, en donde la inhibición de la actividad de proteasa KLK5 humana es la inhibición de la escisión mediada por KLK5 humana del sustrato Boc-Val-Pro-Arg-AMC.

Forma de realización 132. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 131, en donde el anticuerpo se une a KLK7 humana con una K_D de

menos de 20 pM, o menos de 15 pM, o menos de 10 pM, menos de 5 pM, o menos de 3 pM, o menos de 2 pM, o menos de 1 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales.

Forma de realización 133. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 132, en donde el anticuerpo inhibe la actividad de proteasa KLK7 humana con una IC₅₀ de menos de 5 nM, o menos de 3 nM, o menos de 2 nM, o menos de 1 nM.

Forma de realización 134. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 133, en donde el anticuerpo se une a KLK7 humana con una K_D de menos de 20 pM, o menos de 15 pM, o menos de 10 pM, menos de 5 pM, o menos de 3 pM, o menos de 2 pM, o menos de 1 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales; y en donde el anticuerpo inhibe la actividad de proteasa KLK7 humana con una IC₅₀ de menos de 5 nM, o menos de 3 nM, o menos de 2 nM, o menos de 1 nM.

Forma de realización 135. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 133 o la forma de realización 134, en donde la inhibición de actividad de proteasa KLK7 humana es la inhibición de escisión mediada por KLK7 humana de un sustrato que comprende la secuencia de aminoácidos RPKPVE- Nval-WRK (SEQ ID NO: 121), en donde Nval es norvalina.

Forma de realización 136. El anticuerpo biespecífico de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 69 a 135, en donde la K_D del anticuerpo biespecífico para KLK5 humana y la K_D del anticuerpo para KLK7 humana son hasta 3 veces, o hasta 2,5 veces, o hasta 2 veces o hasta 1,5 veces una con respecto a la otra.

Forma de realización 137. Un ácido nucleico aislado que codifica el anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 136.

Forma de realización 138. Un ácido nucleico aislado que codifica el primer dominio de unión del anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 136.

Forma de realización 139. Un ácido nucleico aislado que codifica el segundo dominio de unión del anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 136.

Forma de realización 140. Una célula huésped aislada que comprende el ácido nucleico aislado de la forma de realización 137.

Forma de realización 141. Una célula huésped aislada que comprende el ácido nucleico aislado de la forma de realización 138.

Forma de realización 142. Una célula huésped aislada que comprende el ácido nucleico aislado de la forma de realización 139.

Forma de realización 143. Una célula huésped aislada que expresa el anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 136.

Forma de realización 144. Una célula huésped aislada que expresa el primer dominio de unión del anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 136.

Forma de realización 145. Una célula huésped aislada que expresa el segundo dominio de unión del anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 136.

Forma de realización 146. Un método para producir un anticuerpo biespecífico que se une a KLK5 humana y KLK7 humana, que comprende cultivar la célula huésped de la forma de realización 140 o la forma de realización 143 en condiciones adecuadas para la expresión del anticuerpo.

Forma de realización 147. El método de la forma de realización 146, que además comprende recuperar el anticuerpo de la célula huésped.

Forma de realización 148. Un método para producir un anticuerpo biespecífico que se une a KLK5 humana y KLK7 humana, que comprende (i) cultivar la célula huésped de la forma de realización 141 o la forma de realización 144 en condiciones adecuadas para la expresión del primer dominio de unión; y (ii) cultivar la célula huésped de la forma de realización 142 o la forma de realización 145 en condiciones adecuadas para la expresión del segundo dominio de unión.

Forma de realización 149. El método de la forma de realización 148, que también comprende recuperar el primer dominio de unión y el segundo dominio de unión y ensamblar el anticuerpo biespecífico.

Forma de realización 150. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 a 27 y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Forma de realización 151. La composición farmacéutica de la forma de realización 150, que también comprende un agente terapéutico adicional.

Forma de realización 152. La composición farmacéutica de la forma de realización 151, en donde el agente terapéutico adicional es un inhibidor de KLK5.

Forma de realización 153. La composición farmacéutica de la forma de realización 152, en donde el inhibidor de KLK5 es un anticuerpo anti-KLK5.

Forma de realización 154. La composición farmacéutica de la forma de realización

153, en donde el anticuerpo anti-KLK5 comprende:

- a) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 39 y 107, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 40 y 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 43 y 44, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 46-49; o
- b) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 69 y 70, y (c) CDR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 71 y 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 75-78.

Forma de realización 155. La composición farmacéutica de la forma de realización 153 o la forma de realización 154, en donde el anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47.

Forma de realización 156. La composición farmacéutica de la forma de realización 153 o la forma de realización 154, en donde el anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76.

Forma de realización 157. La composición farmacéutica de cualquiera de las formas de realización 153 a 156, en donde el anticuerpo anti-KLK5 es un anticuerpo monoclonal.

Forma de realización 158. La composición farmacéutica de cualquiera de las formas de realización 153 a 157, en donde el anticuerpo anti-KLK5 es un anticuerpo humanizado o quimérico.

Forma de realización 159. La composición farmacéutica de cualquiera de las formas de realización 153 a 158, en donde el anticuerpo anti-KLK5 es un fragmento de anticuerpo que se une a KLK5 humana.

Forma de realización 160. La composición farmacéutica de cualquiera de las formas de realización 153-159, en donde el anticuerpo anti-KLK5 comprende una secuencia seleccionada de:

- a) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106;
- b) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 51 y 54-67; y
- c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b);
- d) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 79 y 81-87;
- e) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 80 y 88-94; y
- f) una secuencia de VH como se definió en (d) y una secuencia de VL como se definió en (e).

Forma de realización 161. La composición farmacéutica de cualquiera de las formas

de realización 153-159, en donde el anticuerpo anti-KLK5 comprende una secuencia seleccionada de:

- a) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 52, 53, 105 y 106;
- b) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 54-67; y
- c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b);
- d) una secuencia de VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 81-87;
- e) una secuencia de VL que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 88-94; y
- f) una secuencia de VH como se definió en (d) y una secuencia de VL como se definió en (e).

Forma de realización 162. La composición farmacéutica de cualquiera de las formas de realización 153-159, en donde el anticuerpo anti-KLK5 comprende una secuencia seleccionada de:

- a) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106;
- b) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 51 y 54-67; y
- c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b);
- d) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 79 y 81-87;
- e) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 80 y 88-94; y
- f) una secuencia de VH como se definió en (d) y una secuencia de VL como se definió en (e).

Forma de realización 163. La composición farmacéutica de cualquiera de las formas de realización 153-159, en donde el anticuerpo anti-KLK5 comprende una secuencia seleccionada de:

- a) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 52, 53, 105 y 106;

- b) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 54-67; y
- c) una secuencia de VH como se definió en (a) y una secuencia de VL como se definió en (b);
- d) una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 81-87;
- e) una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 88-94; y
- f) una secuencia de VH como se definió en (d) y una secuencia de VL como se definió en (e).

Forma de realización 164. La composición farmacéutica de la forma de realización 153, en donde el anticuerpo anti-KLK5 es un anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 62.

Forma de realización 165. La composición farmacéutica de la forma de realización 153, en donde el anticuerpo anti-KLK5 es un anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 47, 48, 51 y 52.

Forma de realización 166. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 34 a 62 y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Forma de realización 167. La composición farmacéutica de la forma de realización 166, que también comprende un agente terapéutico adicional.

Forma de realización 168. La composición farmacéutica de la forma de realización 167, en donde el agente terapéutico adicional es un inhibidor de KLK7.

Forma de realización 169. La composición farmacéutica de la forma de realización 168, en donde el inhibidor de KLK7 es un anticuerpo anti-KLK7.

Forma de realización 170. La composición farmacéutica de la forma de realización 169, en donde el anticuerpo anti-KLK7 es un anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 27.

Forma de realización 171. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 a 27, y un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 34 a 62, y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Forma de realización 172. La composición farmacéutica de cualquiera de las formas de realización 150 a 171, que comprende un agente terapéutico adicional seleccionado de un agente antiinflamatorio y un antibiótico.

Forma de realización 173. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo biespecífico de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 69 a 136.

Forma de realización 174. La composición farmacéutica de la forma de realización 173, que también comprende un agente terapéutico adicional.

Forma de realización 175. La composición farmacéutica de la forma de realización 174, en donde el agente terapéutico adicional es un agente antiinflamatorio.

Forma de realización 176. La composición farmacéutica de cualquiera de las formas de realización 150 a 175, en donde la composición farmacéutica es para administración tópica.

Forma de realización 177. La composición farmacéutica de cualquiera de las formas de realización 150 a 175, en donde la composición farmacéutica es para administración subcutánea o intravenosa.

Forma de realización 178. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 27 y 34 a 62, el anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 136, o la composición farmacéutica de cualquiera de las formas de realización 150 a 177 para usar como medicamento.

Forma de realización 179. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 27 y 34 a 62, el anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 136, o la composición farmacéutica de cualquiera de las formas de realización 150 a 177 para usar en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y rosácea.

Forma de realización 180. El anticuerpo, anticuerpo biespecífico o composición farmacéutica para usar de la forma de realización 179, en donde el asma se selecciona de asma atópica, asma alérgica, asma no alérgica, asma inducida por el ejercicio, asma sensible a o exacerbada por la aspirina, asma leve, asma moderada a grave, asma sin tratamiento previo con corticosteroides, asma crónica, asma resistente a corticosteroides, asma insensible a corticosteroides, asma de diagnóstico reciente o sin tratar, asma debido a tabaquismo, asma no controlada tratada con corticosteroides, asma producida por linfocito T colaborador tipo 2 (Th2) o tipo 2 (Th2) alto o Tipo 2 (T2), asma eosinofílica, asma con periostina alta, asma con eosinófilos altos, asma de Th2 bajo o asma no producida por Th2, asma con periostina baja y asma con eosinófilos bajos.

Forma de realización 181. El anticuerpo, anticuerpo biespecífico o composición farmacéutica para usar de la forma de realización 180, en donde el asma es asma con

eosinófilos bajos.

Forma de realización 182. Una combinación de un anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 27 y un anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 62, para usar como un medicamento.

Forma de realización 183. Una combinación de un anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 27 y un anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 62, para usar en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y rosácea.

Forma de realización 184. La combinación de la forma de realización 183, en donde el asma se selecciona de asma atópica, asma alérgica, asma no alérgica, asma inducida por el ejercicio, asma sensible a o exacerbada por la aspirina, asma leve, asma moderada a grave, asma sin tratamiento previo con corticosteroides, asma crónica, asma resistente a corticosteroides, asma insensible a corticosteroides, asma de diagnóstico reciente o sin tratar, asma debido a tabaquismo, asma no controlada tratada con corticosteroides, asma producida por linfocito T colaborador tipo 2 (Th2) o tipo 2 (Th2) alto o Tipo 2 (T2), asma eosinofílica, asma con periostina alta, asma con eosinófilos altos, asma de Th2 bajo o asma no producida por Th2, asma con periostina baja y asma con eosinófilos bajos.

Forma de realización 185. La combinación de la forma de realización 184, en donde el asma es asma con eosinófilos bajos.

Forma de realización 186. El uso del anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 27 y 34 a 62, el anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 136, o la composición farmacéutica de cualquiera de las formas de realización 150 a 177 en la elaboración de un medicamento para tratar una enfermedad seleccionada de síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y rosácea.

Forma de realización 187. El uso de la forma de realización 186, en donde el asma se selecciona de asma atópica, asma alérgica, asma no alérgica, asma inducida por el ejercicio, asma sensible a o exacerbada por la aspirina, asma leve, asma moderada a grave, asma sin tratamiento previo con corticosteroides, asma crónica, asma resistente a corticosteroides, asma insensible a corticosteroides, asma de diagnóstico reciente o sin tratar, asma debido a tabaquismo, asma no controlada tratada con corticosteroides, asma producida por linfocito T colaborador tipo 2 (Th2) o tipo 2 (Th2) alto o Tipo 2 (T2), asma eosinofílica, asma con periostina alta, asma con eosinófilos altos, asma de

Th2 bajo o asma no producida por Th2, asma con periostina baja y asma con eosinófilos bajos.

Forma de realización 188. El uso de la forma de realización 187, en donde el asma es asma con eosinófilos bajos.

Forma de realización 189. El uso de una combinación del anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 27 y el anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 62, en la elaboración de un medicamento para tratar una enfermedad seleccionada de síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y rosácea.

Forma de realización 190. El uso de la forma de realización 189, en donde el asma se selecciona de asma atópica, asma alérgica, asma no alérgica, asma inducida por el ejercicio, asma sensible a o exacerbada por la aspirina, asma leve, asma moderada a grave, asma sin tratamiento previo con corticosteroides, asma crónica, asma resistente a corticosteroides, asma insensible a corticosteroides, asma de diagnóstico reciente o sin tratar, asma debido a tabaquismo, asma no controlada tratada con corticosteroides, asma producida por linfocito T colaborador tipo 2 (Th2) o tipo 2 (Th2) alto o Tipo 2 (T2), asma eosinofílica, asma con periostina alta, asma con eosinófilos altos, asma de Th2 bajo o asma no producida por Th2, asma con periostina baja y asma con eosinófilos bajos.

Forma de realización 191. El uso de la forma de realización 190, en donde el asma es asma con eosinófilos bajos.

Forma de realización 192. El uso del anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 a 27 y 34 a 62, el anticuerpo biespecífico de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 69 a 136, o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 150 a 177 en la elaboración de un medicamento para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel.

Forma de realización 193. El uso de una combinación del anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 27 y el anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 62 en la elaboración de un medicamento para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel.

Forma de realización 194. Un método para tratar a un individuo que tiene una enfermedad seleccionada de síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y rosácea, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 a 27 y 34 a 62, el anticuerpo biespecífico de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 69 a 136, o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 150 a 177.

Forma de realización 195. Un método para tratar a un individuo que tiene una enfermedad seleccionada de síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y rosácea, que comprende administrar al individuo a) una cantidad eficaz del anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 27; y b) una cantidad eficaz del anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 62.

Forma de realización 196. El método de la forma de realización 195, en donde el anticuerpo de (a) y el anticuerpo de (b) se administran de manera simultánea.

Forma de realización 197. El método de la forma de realización 195, en donde el anticuerpo de (a) y el anticuerpo de (b) se administran de manera secuencial.

Forma de realización 198. Un método para tratar a un individuo que tiene una enfermedad seleccionada de síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y rosácea, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo biespecífico de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 69 a 136, o una cantidad eficaz de la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 150 a 177.

Forma de realización 199. El método de cualquiera de las formas de realización 194 a 198, en donde el asma se selecciona de asma atópica, asma alérgica, asma no alérgica, asma inducida por el ejercicio, asma sensible a o exacerbada por la aspirina, asma leve, asma moderada a grave, asma sin tratamiento previo con corticosteroides, asma crónica, asma resistente a corticosteroides, asma insensible a corticosteroides, asma de diagnóstico reciente o sin tratar, asma debido a tabaquismo, asma no controlada tratada con corticosteroides, asma producida por linfocito T colaborador tipo 2 (Th2) o tipo 2 (Th2) alto o Tipo 2 (T2), asma eosinofílica, asma con periostina alta, asma con eosinófilos altos, asma de Th2 bajo o asma no producida por Th2, asma con periostina baja y asma con eosinófilos bajos.

Forma de realización 200. El método de la forma de realización 199, en donde el asma es asma con eosinófilos bajos.

Forma de realización 201. El método de cualquiera de las formas de realización 194 a 198, en donde el individuo tiene síndrome de Netherton.

Forma de realización 202. El método de cualquiera de las formas de realización 194 a 198, en donde el individuo tiene rosácea.

Forma de realización 203. El método de cualquiera de las formas de realización 194 a 202, que además comprende administrar un agente terapéutico adicional al individuo.

Forma de realización 204. El método de la forma de realización 203, en donde el agente terapéutico adicional es un agente antiinflamatorio.

Forma de realización 205. Un método para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 a 27 y 34 a 62, el anticuerpo biespecífico de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 69 a 136, o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 150 a 177 para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis y/o restaurar la barrera epitelial.

Forma de realización 206. Un método para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel en un individuo que comprende administrar al individuo a) una cantidad eficaz del anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 1 a 27; y b) una cantidad eficaz del anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 34 a 62 para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis y/o restaurar la barrera epitelial.

Forma de realización 207. El método de la forma de realización 206, en donde el anticuerpo de (a) y el anticuerpo de (b) se administran de manera simultánea.

Forma de realización 208. El método de la forma de realización 206, en donde el anticuerpo de (a) y el anticuerpo de (b) se administran de manera secuencial.

Forma de realización 209. Un método para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los

infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel en un individuo que comprende administrar al individuo el anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 69 a 136; o una cantidad eficaz de la composición farmacéutica de cualquiera de las formas de realización 150 a 177 para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis y/o restaurar la barrera epitelial.

Forma de realización 210. El método de cualquiera de las formas de realización 194 a 209, en donde la administración es administración subcutánea o intravenosa.

Forma de realización 211. El método de cualquiera de las formas de realización 194 a 209, en donde la administración es administración tópica.

Forma de realización 212. El método de cualquiera de las formas de realización 194 a 209, en donde la administración es administración intravenosa.

Forma de realización 213. Un anticuerpo aislado que se une a KLK7 humana, en donde, cuando este se une a KLK7 humana, da como resultado un cambio conformacional de KLK7 humana, en donde el cambio conformacional resulta alostéricamente en la interrupción del sitio de unión al sustrato y/o el sitio activo de KLK7 humana.

Forma de realización 214. El anticuerpo aislado de la forma de realización 213, que es un anticuerpo biespecífico.

Forma de realización 215. El anticuerpo aislado de la forma de realización 214, en donde el anticuerpo biespecífico se une a KLK7 humana y KLK5 humana.

Forma de realización 216. El anticuerpo aislado de la forma de realización 215, en donde, cuando este se une a KLK5 humana, da como resultado un cambio conformacional de KLK5 humana, en donde el cambio conformacional resulta alostéricamente en la interrupción del sitio de unión al sustrato y/o el sitio activo de KLK5 humana.

Forma de realización 217. El anticuerpo aislado de la forma de realización 216, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en KLK5 humana que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de Pro130, Ser131, Ala132, Gly133, Val162, Leu163, Ser164, Gln165, Lys166, Arg167, Glu169, Asp170, Ala171, Tyr172, Pro173, Arg174, Gln174A, Ile176, Asp177, Asp178, Gly184, Asp185, Lys186, Ala186A, Arg188, Asn223, Arg224, Pro225 y Lys233 de acuerdo con la numeración de proteasa estándar.

Forma de realización 218. El anticuerpo aislado de la forma de realización 217, en

donde el anticuerpo se une a un epítipo en KLK5 humana que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en Pro130, Ser131, Ala132, Val162, Leu163, Ser164, Gln165, Lys166, Arg167, Glu169, Asp170, Ala171, Tyr172, Pro173, Arg174, Gln174A, Ile176, Asp177, Asp178, Arg224 y Lys233 de acuerdo con la numeración de proteasa estándar.

Forma de realización 219. El anticuerpo aislado de la forma de realización 217, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en KLK5 humana que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de Pro130, Ser131, Ala132, Gly133, Val162, Leu163, Ser164, Gln165, Lys166, Arg167, Glu169, Asp170, Ala171, Tyr172, Pro173, Arg174, Gln174A, Ile176, Asp177 y Lys233 de acuerdo con la numeración de proteasa estándar.

Forma de realización 220. El anticuerpo aislado de la forma de realización 217, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en KLK5 humana que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de Ser131, Ala132, Gly133, Leu163, Ser164, Gln165, Lys166, Arg167, Glu169, Asp170, Ala171, Pro173, Arg174, Gly184, Asp185, Lys186, Ala186A, Arg188, Asn223, Arg224 y Pro225 de acuerdo con la numeración de proteasa estándar.

Forma de realización 221. El anticuerpo aislado de cualquiera de las formas de realización 213 a 220, en donde el anticuerpo se une a un epítipo dentro de los aminoácidos R71-N82, K152-S158 y/o Q211-K222 de KLK7 (SEQ ID NO: 4).

Forma de realización 222. El anticuerpo aislado de cualquiera de las formas de realización 213 a 221, en donde el anticuerpo se une a un epítipo que comprende uno o más de los aminoácidos H72, P73, G74, S76, Q78, N82, N157, K211 y/o T213 de KLK7 (SEQ ID NO: 4).

Forma de realización 223. Un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde cuando se une a KLK7 humana da como resultado un cambio conformacional de KLK7 humana, en donde el cambio conformacional resulta alostéricamente en la interrupción del sitio de unión al sustrato y/o el sitio activo de KLK7 humana.

Forma de realización 224. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 223, en donde, cuando este se une a KLK5 humana, da como resultado un cambio conformacional de KLK5 humana, en donde el cambio conformacional resulta alostéricamente en la interrupción del sitio de unión al sustrato y/o el sitio activo de KLK5 humana.

Forma de realización 225. Un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde cuando se une a KLK5 humana da como resultado un cambio conformacional de KLK5 humana, en donde el cambio conformacional resulta alostéricamente en la interrupción del sitio de unión al sustrato y/o el sitio activo de KLK5 humana.

Forma de realización 226. El anticuerpo biespecífico de la forma de realización 224 o la forma de realización 225, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en KLK5 humana que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de Pro130, Ser131, Ala132, Gly133, Val162, Leu163, Ser164, Gln165, Lys166, Arg167, Glu169, Asp170, Ala171, Tyr172, Pro173, Arg174, Gln174A, Ile176, Asp177, Asp178, Gly184, Asp185, Lys186, Ala186A, Arg188, Asn223, Arg224, Pro225 y Lys233 de acuerdo con la numeración de proteasa estándar.

Forma de realización 227. El anticuerpo aislado de la forma de realización 226, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en KLK5 humana que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados del grupo que consiste de Pro130, Ser131, Ala132, Val162, Leu163, Ser164, Gln165, Lys166, Arg167, Glu169, Asp170, Ala171, Tyr172, Pro173, Arg174, Gln174A, Ile176, Asp177, Asp178, Arg224 y Lys233 de acuerdo con la numeración de proteasa estándar.

Forma de realización 228. El anticuerpo aislado de la forma de realización 226, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en KLK5 humana que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de Pro130, Ser131, Ala132, Gly133, Val162, Leu163, Ser164, Gln165, Lys166, Arg167, Glu169, Asp170, Ala171, Tyr172, Pro173, Arg174, Gln174A, Ile176, Asp177 y Lys233 de acuerdo con la numeración de proteasa estándar.

Forma de realización 229. El anticuerpo aislado de la forma de realización 226, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en KLK5 humana que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de Ser131, Ala132, Gly133, Leu163, Ser164, Gln165, Lys166, Arg167, Glu169, Asp170, Ala171, Pro173, Arg174, Gly184, Asp185, Lys186, Ala186A, Arg188, Asn223, Arg224 y Pro225 de acuerdo con la numeración de proteasa estándar.

Forma de realización 230. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 223 a 229, en donde el anticuerpo se une a un epítipo dentro de los aminoácidos R71-N82, K152-S158 y/o Q211-K222 de KLK7 (SEQ ID NO: 4).

Forma de realización 231. El anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de

realización 223 a 230, en donde el anticuerpo se une a un epítipo que comprende uno o más de los aminoácidos H72, P73, G74, S76, Q78, N82, N157, K211 y/o T213 de KLK7 (SEQ ID NO: 4).

Forma de realización 232. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 213 a 222 y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Forma de realización 233. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo biespecífico de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 223 a 231 y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Forma de realización 234. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 213 a 222, el anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 223 a 231, o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de la forma de realización 232 o la forma de realización a 233 para usar como medicamento.

Forma de realización 235. El anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 213 a 222, el anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 223 a 231, o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de la forma de realización 232 o la forma de realización 233 para usar en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y rosácea.

Forma de realización 236. El anticuerpo, anticuerpo biespecífico o composición farmacéutica para usar de la forma de realización 235, en donde el asma se selecciona de asma atópica, asma alérgica, asma no alérgica, asma inducida por el ejercicio, asma sensible a o exacerbada por la aspirina, asma leve, asma moderada a grave, asma sin tratamiento previo con corticosteroides, asma crónica, asma resistente a corticosteroides, asma insensible a corticosteroides, asma de diagnóstico reciente o sin tratar, asma debido a tabaquismo, asma no controlada tratada con corticosteroides, asma producida por linfocito T colaborador tipo 2 (Th2) o tipo 2 (Th2) alto o Tipo 2 (T2), asma eosinofílica, asma con periostina alta, asma con eosinófilos altos, asma de Th2 bajo o asma no producida por Th2, asma con periostina baja y asma con eosinófilos bajos.

Forma de realización 237. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 213 a 222, el anticuerpo biespecífico de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 223 a 231, o la composición farmacéutica de la forma de realización 232 o la forma de realización 233 para usar para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua

transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel.

Forma de realización 238. El uso del anticuerpo de cualquiera de las formas de realización 213 a 222, el anticuerpo biespecífico de cualquiera de las formas de realización 223 a 231, o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de la forma de realización 232 o la forma de realización 233 en la elaboración de un medicamento para tratar una enfermedad seleccionada de síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y rosácea.

Forma de realización 239. El uso de la forma de realización 238, en donde el asma se selecciona de asma atópica, asma alérgica, asma no alérgica, asma inducida por el ejercicio, asma sensible a o exacerbada por la aspirina, asma leve, asma moderada a grave, asma sin tratamiento previo con corticosteroides, asma crónica, asma resistente a corticosteroides, asma insensible a corticosteroides, asma de diagnóstico reciente o sin tratar, asma debido a tabaquismo, asma no controlada tratada con corticosteroides, asma producida por linfocito T colaborador tipo 2 (Th2) o tipo 2 (Th2) alto o Tipo 2 (T2), asma eosinofílica, asma con periostina alta, asma con eosinófilos altos, asma de Th2 bajo o asma no producida por Th2, asma con periostina baja y asma con eosinófilos bajos.

Forma de realización 240. El uso del anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 213 a 222, el anticuerpo biespecífico de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 223 a 231, o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de la forma de realización 232 o la forma de realización 233 en la elaboración de un medicamento para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel.

Forma de realización 241. Un método para tratar a un individuo que tiene una enfermedad seleccionada de síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y rosácea, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 213 a 222, el anticuerpo biespecífico de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 223 a 231, o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de la forma de realización 232 la forma de realización 233.

Forma de realización 242. El método de acuerdo con la forma de realización 241, en donde el asma se selecciona de asma atópica, asma alérgica, asma no alérgica, asma

inducida por el ejercicio, asma sensible a o exacerbada por la aspirina, asma leve, asma moderada a grave, asma sin tratamiento previo con corticosteroides, asma crónica, asma resistente a corticosteroides, asma insensible a corticosteroides, asma de diagnóstico reciente o sin tratar, asma debido a tabaquismo, asma no controlada tratada con corticosteroides, asma producida por linfocito T colaborador tipo 2 (Th2) o tipo 2 (Th2) alto o Tipo 2 (T2), asma eosinofílica, asma con periostina alta, asma con eosinófilos altos, asma de Th2 bajo o asma no producida por Th2, asma con periostina baja y asma con eosinófilos bajos.

Forma de realización 243. Un método para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 213 a 222, el anticuerpo biespecífico de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 69 a 231, o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de la forma de realización 232 o la forma de realización 233 para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis y/o restaurar la barrera epitelial.

Forma de realización 244. El anticuerpo, anticuerpo biespecífico o composición farmacéutica para usar de acuerdo con la forma de realización 179 o la forma de realización 235, en donde la enfermedad es síndrome de Netherton.

Forma de realización 245. La combinación para usar en la forma de realización 183, en donde la enfermedad es síndrome de Netherton.

Forma de realización 246. El uso de cualquiera de las formas de realización 186, 189, y 238, en donde la enfermedad es síndrome de Netherton.

Forma de realización 247. El uso de cualquiera de las formas de realización 192, 193, y 240, en donde el medicamento es para reducir la inflamación del epitelio, la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel en un individuo con síndrome de Netherton.

Forma de realización 248. Un anticuerpo biespecífico para usar en el tratamiento de Síndrome de Netherton, en donde el anticuerpo biespecífico comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en

donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 112 o 194, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 113, y el segundo dominio de unión que comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 114 o 195, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 115.

Forma de realización 249. Un anticuerpo anti-KLK5 para usar en el tratamiento de síndrome de Netherton, en donde el anticuerpo anti-KLK5 comprende (a) una secuencia de VH de SEQ ID NO: 52 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 55; o (b) una secuencia de VH de SEQ ID NO: 53 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 62.

Forma de realización 250. Un anticuerpo anti-KLK7 para su uso en el tratamiento de síndrome de Netherton, en donde el anticuerpo anti-KLK7 comprende (a) una secuencia de VH de SEQ ID NO: 29 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 32; o (b) una secuencia de VH de SEQ ID NO: 30 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 38.

Forma de realización 251. Una combinación de anticuerpos para usar en el tratamiento de síndrome de Netherton, en donde la combinación de anticuerpos comprende un anticuerpo anti-KLK5 y un anticuerpo anti-KLK7, en donde el anticuerpo anti-KLK5 comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 52 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: una secuencia de VH de SEQ ID NO: 16; 53 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 62; y en donde el anticuerpo anti-KLK7 comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 29 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: una secuencia de VH de SEQ ID NO: 16; 30 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 38.

Forma de realización 252. Un método para tratar a un individuo que tiene una enfermedad seleccionada de síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y rosácea, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo biespecífico, en donde el anticuerpo biespecífico comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana e inhibe la actividad de proteasa KLK7 y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana e inhibe la actividad de proteasa KLK5.

Forma de realización 253. Un método para tratar a un individuo que tiene una enfermedad seleccionada de síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y rosácea, que comprende administrar al individuo un anticuerpo anti-KLK5 y un anticuerpo anti-KLK7, en donde el anticuerpo anti-KLK5 inhibe la actividad de proteasa KLK5, y en donde el anticuerpo anti-KLK7 inhibe la actividad de proteasa KLK7.

Forma de realización 254. Un método para reducir inflamación del epitelio, la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel en un individuo que comprende administrar al individuo un antagonista KLK5 y un antagonista KLK7.

Forma de realización 255. El método de la forma de realización 254, en donde el antagonista KLK5 es un anticuerpo anti-KLK5 y/o el antagonista KLK7 es un anticuerpo anti-KLK7.

Forma de realización 256. Un método para reducir la inflamación del epitelio, la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo biespecífico, en donde el anticuerpo biespecífico comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana e inhibe la actividad de proteasa KLK7 y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana e inhibe la actividad de proteasa KLK5.

Forma de realización 257. Un método para reducir la inflamación del epitelio, la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel en un individuo que comprende administrar al individuo un anticuerpo anti-KLK5 y un anticuerpo anti-KLK7, en donde el anticuerpo anti-KLK5 inhibe actividad de proteasa KLK5, y en donde el anticuerpo anti-KLK7 inhibe la actividad de proteasa KLK7.

Forma de realización 258. Un método para mejorar la erupción cutánea y/o descamación en un individuo con síndrome de Netherton que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo biespecífico, en donde el anticuerpo biespecífico comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana e inhibe la actividad de proteasa KLK7 y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana e inhibe la actividad de proteasa KLK5.

Forma de realización 259. Un método para mejorar la erupción cutánea y/o descamación en un individuo con síndrome de Netherton que comprende administrar al individuo un anticuerpo anti-KLK5 y un anticuerpo anti-KLK7, en donde el anticuerpo anti-KLK5 inhibe la actividad de proteasa KLK5, y en donde el anticuerpo anti-KLK7

inhibe la actividad de proteasa KLK7.

Forma de realización 260. El uso de cualquiera de las formas de realización 192, 193, 240 o 247 o el método de cualquiera de las formas de realización 205, 206, 209, 243 o 254-257, o el anticuerpo, anticuerpo biespecífico, o composición farmacéutica para usar de la forma de realización 237, en donde las citosinas inflamatorias de la piel son una o más de IL-8, TNF α , IL-6, IL-4 y/o G-CSF.

Forma de realización 261. Un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 194, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 113, y el segundo dominio de unión que comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 195, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 115.

Forma de realización 262. Un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 112, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 113, y el segundo dominio de unión que comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 195, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 115.

Forma de realización 263. Un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 194, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 113, y el segundo dominio de unión que comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 114, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 115.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[008] Las Figuras 1A-1B muestran una alineación de la región variable de la cadena liviana del anticuerpo anti-KLK7 rb.14H11c-LC con determinadas versiones

humanizadas de las regiones variables de la cadena liviana (1A) y la región variable de la cadena pesada del anticuerpo anti-KLK7 rb.14H11c-HC con determinadas versiones humanizadas de las regiones variables de la cadena pesada (1B). Se indican las CDR de acuerdo con Chothia, Kabat, y los residuos de contacto. Las diferencias en las versiones humanizadas con respecto a las regiones variables de origen de conejo se indicaron en blanco con un fondo negro.

[009] Las Figuras 2A-2B muestran una alineación de la región variable de la cadena liviana del anticuerpo anti-KLK5 humanizado hu.10C5-H28L5 con determinadas versiones humanizadas modificadas de las regiones variables de la cadena liviana (2A) y la región variable de la cadena pesada del anticuerpo anti-KLK5 humanizado hu.10C5-H28L5 con determinadas versiones humanizadas modificadas de las regiones variables de la cadena pesada (2B). Se indican las CDR de acuerdo con Chothia, Kabat, y los residuos de contacto. Las diferencias en las versiones humanizadas con respecto a las regiones variables de origen se indicaron en blanco con un fondo negro.

[0010] Las Figuras 3A-3B muestran una alineación de la región variable de la cadena liviana del anticuerpo anti-KLK5 humanizado hu.9H5-H14L4 con determinadas versiones humanizadas modificadas de las regiones variables de la cadena liviana (3A) y la región variable de la cadena pesada del anticuerpo anti-KLK5 humanizado hu.9H5-H14L4 con determinadas versiones humanizadas modificadas de las regiones variables de la cadena pesada (3B). Se indican las CDR de acuerdo con Chothia, Kabat, y los residuos de contacto. Las diferencias en las versiones humanizadas con respecto a las regiones variables de origen se indicaron en blanco con un fondo negro.

[0011] La Figura 4 muestra la afinidad de las variantes de cadena liviana y cadena pesada del anticuerpo anti-KLK5 hu.10C5.L5H28 humanizado y hu.10C5.L5H28 de origen.

[0012] La Figura 5 muestra un diagrama de dispersión de las velocidades de asociación (k_a) y las velocidades de disociación (k_d) de variantes de la cadena liviana y cadena pesada del anticuerpo anti-KLK5 hu.9H5.L4H14 humanizado.

[0013] Las Figuras 6A-6B muestran rastros de resonancia de plasmones superficiales para las variantes de hu.10C5.L5H28 indicadas para KLK5 humana (Figura 6A) y KLK5 de *Macaca fascicularis* (Figura 6B).

[0014] Las Figuras 7A-7B muestran rastros de resonancia de plasmones superficiales para las variantes de hu.9H5.L4H14 indicadas para KLK5 humana (Figura 7A) y KLK5 de *Macaca fascicularis* (Figura 7B).

[0015] La Figura 8 muestra una expresión representativa de la proteína KLK5 en piel normal humana, dermatitis atópica y rosácea.

[0016] La Figura 9 muestra tinción representativa de mRNA de KLK7 en piel normal humana, dermatitis atópica, rosácea y psoriasis.

[0017] Las Figuras 10A-10C muestran la profundidad de expresión de KLK5 (10A), la profundidad de expresión de KLK7 (10B) y la profundidad de expresión de SPINK5 (10C) en piel normal humana, dermatitis atópica, rosácea y psoriasis.

[0018] La Figura 11 muestra la pérdida de agua transepidérmica en ratones que recibieron solución salina, KLK5 o KLK7.

[0019] Las Figuras 12A-12C muestran el puntaje clínico diario (12A), el puntaje de dermatitis atópica terminal total (12B) y el puntaje de piel según AUC (12C) en ratones de modelo de dermatitis atópica con proteína A de *S. Aureus* en SDS que recibieron anticuerpo de control de isotipo, anticuerpo anti-KLK5 murina, anticuerpo anti-KLK7 murina, una combinación de anticuerpos anti-KLK5 y anti-KLK7, o SPINK5-Fc.

[0020] La Figura 13 muestra el puntaje de dermatitis atópica terminal total, la pérdida de agua transepidérmica y el puntaje histológico de gravedad de la enfermedad en ratones de modelo de dermatitis atópica con proteína A de *S. Aureus* en SDS que recibieron anticuerpo de control de isotipo, anticuerpo anti-KLK5 murina, anticuerpo anti-KLK7 murina, una combinación de anticuerpos anti-KLK5 y anti-KLK7, o anticuerpo anti-IL-13.

[0021] La Figura 14 muestra una tinción representativa con hematoxilina y eosina de piel de ratones de modelo de dermatitis atópica con proteína A de *S. Aureus* en SDS que recibieron anticuerpo de control de isotipo, una combinación de anticuerpos anti-KLK5 y anti-KLK7, o anticuerpo anti-IL-13.

[0022] La Figura 15 muestra una representación esquemática de un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7 de ejemplo proporcionado en la presente, que incluye sustituciones para promocionar el correcto apareamiento de cadena pesada/cadena liviana y/o sustituciones para reducir las funciones efectoras. En un formato alternativo, el botón puede estar presente en el brazo anti-KLK5 y el ojal puede estar presente en el brazo anti-KLK7.

[0023] Las Figuras 16A-16D muestran la reducción de erupción cutánea y descamación en ratones con deficiencia de Spink5 tratados con anticuerpo biespecífico anti-mKLK5/mKLK7. Los ratones de control Spink5 f/f Cre-ERT2-negativo se trataron con 16 mg/kg de tamoxifeno (16A), y a los ratones Spink5 f/f Cre-ERT2+ se les inyectó 16 mg/kg (16B), 8 mg/kg (16C) o 4 mg/kg (16D) de tamoxifeno, luego se

trataron con 2,5 mg de anticuerpo de control de isotipo anti-gp120 o 2,5 mg de anticuerpo biespecífico anti-mKLK5/mKLK7 día por medio. La piel del lomo se analizó 6 días después de la inyección.

[0024] Las Figuras 17A-17E muestran la reducción de las citocinas IL-8 (17A), TNF- α (17B), IL-6 (17C), IL-4 (17D) y G-CSF (17E) en lisados preparados de piel del lomo de ratones con deficiencia de Spink5 luego de un tratamiento con anticuerpo biespecífico anti-mKLK5/mKLK7 en comparación con un tratamiento con anticuerpo de control de isotipo.

[0025] La Figura 18 muestra secciones transversales representativas de piel teñida con hematoxilina y eosina de ratones de control Spink5 f/f Cre-ERT2-negativo tratados con 16mg/kg de tamoxifeno y ratones Spink5 f/f Cre-ERT2+ tratados con 16 mg/kg de tamoxifeno y anticuerpo de control de isotipo o anticuerpo biespecífico anti-mKLK5/mKLK7.

[0026] Las Figuras 19A-19B muestran permeabilidad epitelial según se midió mediante resistencia eléctrica transepitelial (TEER) en queratinocitos epidérmicos humanos tratados con KLK5, KLK7, KLK5+KLK7, y KLK5+KLK7+ anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7.

[0027] Las Figuras 20A-20C muestran la estructura cristalina de Fab anti-KLK7 rb.14H11c unido a KLK7. El Fab completo unido a KLK7 se muestra en la Figura 20A, con una superposición de KLK7 sola. La Figura 20B muestra la interfaz KLK7-Fab. La Figura 20C muestra una superposición de KLK7 en su conformación nativa (amarillo) y KLK7 unida a Fab rb.14H11c (cian). Las porciones de la cadena pesada de rb14H11c se muestran en color azul oscuro.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

I. DEFINICIONES

[0028] Un “marco aceptor humano”, a los fines de la presente, es un marco que comprende la secuencia de aminoácidos de un marco de dominio variable de la cadena liviana (VL) o un marco de dominio variable de la cadena pesada (VH) derivado de un marco de inmunoglobulina humana o un marco de consenso humano, como se define más adelante. Un marco aceptor humano “derivado de” un marco de inmunoglobulina humana o marco de consenso humano puede comprender la misma secuencia de aminoácidos de estos o puede contener cambios en la secuencia de aminoácidos. En algunos aspectos, el número de cambio de aminoácidos es 10 o menos, 9 o menos, 8 o menos, 7 o menos, 6 o menos, 5 o menos, 4 o menos, 3 o

menos o 2 o menos. En algunos aspectos, el marco aceptor humano de VL es idéntico en secuencia a la secuencia de marco de inmunoglobulina humana de VL o la secuencia de marco de consenso humano.

[0029] El término "afinidad", en general, se refiere a la fuerza de la suma total de las interacciones no covalentes entre un sitio de unión único de una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) y su componente de unión (por ejemplo, un antígeno). A menos que se indique lo contrario, como se usa en la presente, "afinidad de unión" se refiere a la afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre miembros de un par de unión (por ejemplo, anticuerpo y antígeno). La afinidad de una molécula X por su componente Y puede representarse generalmente mediante la constante de disociación (K_D). La afinidad se puede medir mediante métodos habituales conocidos en el estado de la técnica, que incluyen los que se describen en la presente. Los métodos ilustrativos y de ejemplo específicos para medir la afinidad de unión se describen más adelante.

[0030] Un anticuerpo "madurado por afinidad" se refiere a un anticuerpo con una o más alteraciones en una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR), en comparación con un anticuerpo de origen que no posee tales alteraciones, en donde tales alteraciones producen una mejora de la afinidad del anticuerpo al antígeno.

[0031] Las expresiones "anticuerpo anti-KLK7" y "un anticuerpo que se une a KLK7" se refiere a un anticuerpo que es capaz de unirse a KLK7, tal como KLK7 humana, con suficiente afinidad de manera que el anticuerpo sea útil como agente de diagnóstico y/o terapéutico para actuar sobre KLK7. En un aspecto, el alcance de la unión de un anticuerpo anti-KLK7 a una proteína no-KLK7 no relacionada es menor que alrededor de 10 % de la unión del anticuerpo a KLK7 según se midió, por ejemplo, mediante resonancia de plasmones superficiales (SPR). En algunos aspectos, un anticuerpo que se une a KLK7 tiene una constante de disociación (K_D) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0,1 \text{ nM}$, $\leq 0,01 \text{ nM}$ o $\leq 0,001 \text{ nM}$ (por ejemplo, 10^{-8} M o menos, por ejemplo, de 10^{-8} M a 10^{-13} M , por ejemplo, de 10^{-9} M a 10^{-13} M). Un anticuerpo "se une específicamente" a KLK7 cuando el anticuerpo tiene una K_D de $1 \mu\text{M}$ o menos. En algunos aspectos, un anticuerpo anti-KLK7 se une a un epítipo de KLK7 que se conserva entre KLK7 de diferentes especies.

[0032] Las expresiones "anticuerpo anti-KLK5" y "un anticuerpo que se une a KLK5" se refiere a un anticuerpo que es capaz de unirse a KLK5, tal como KLK5 humana, con suficiente afinidad de manera que el anticuerpo sea útil como agente de diagnóstico

y/o terapéutico para actuar sobre KLK5. En un aspecto, el alcance de la unión de un anticuerpo anti-KLK5 a una proteína no-KLK5 no relacionada es menor que alrededor de 10 % de la unión del anticuerpo a KLK5 según se midió, por ejemplo, mediante resonancia de plasmones superficiales (SPR). En algunos aspectos, un anticuerpo que se une a KLK5 tiene una constante de disociación (K_D) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0,1 \text{ nM}$, $\leq 0,01 \text{ nM}$ o $\leq 0,001 \text{ nM}$ (por ejemplo, 10^{-8} M o menos, por ejemplo, de 10^{-8} M a 10^{-13} M , por ejemplo, de 10^{-9} M a 10^{-13} M). Un anticuerpo “se une específicamente” a KLK5 cuando el anticuerpo tiene una K_D de $1 \mu\text{M}$ o menos. En algunos aspectos, un anticuerpo anti-KLK5 se une a un epítipo de KLK5 que se conserva entre KLK5 de diferentes especies.

[0033] Las expresiones “anticuerpo anti-KLK5/KLK7” y “un anticuerpo que se une a KLK5 y KLK7” se refiere a un anticuerpo multiespecífico que es capaz de unirse a KLK7 y KLK5 con suficiente afinidad de manera que el anticuerpo sea útil como agente de diagnóstico y/o terapéutico para actuar sobre KLK7 y/o KLK5. En un aspecto, el alcance de la unión de un anticuerpo anti-KLK5/KLK7 a una proteína no-KLK7/no-KLK5 no relacionada es menor que alrededor de 10 % de la unión del anticuerpo a KLK7 o KLK5 según se midió, por ejemplo, mediante una resonancia de plasmones superficiales (SPR). En algunos aspectos, un anticuerpo multiespecífico que se une a KLK7 y KLK5 tiene una constante de disociación de equilibrio (K_D) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0,1 \text{ nM}$, $\leq 0,01 \text{ nM}$ o $\leq 0,001 \text{ nM}$ (por ejemplo, 10^{-8} M o menos, por ejemplo, de 10^{-8} M a 10^{-13} M , por ejemplo, de 10^{-9} M a 10^{-13} M) para cada uno de KLK5 y KLK7. Un anticuerpo “se une específicamente” a una proteína diana cuando el anticuerpo tiene una K_D de $1 \mu\text{M}$ o menos. En algunos aspectos, un anticuerpo anti-KLK5/KLK7 se une a un epítipo de KLK7 que se conserva entre KLK7 de diferentes especies. En algunos aspectos, un anticuerpo anti-KLK5/KLK7 se une a un epítipo de KLK5 que se conserva entre KLK5 de diferentes especies.

[0034] El término “anticuerpo” se usa en la presente en el sentido más amplio y abarca diversas estructuras de anticuerpos, que incluyen, entre otros, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) y fragmentos de anticuerpos, siempre y cuando presenten la actividad de unión a antígenos deseada.

[0035] Un “fragmento de anticuerpo” se refiere a una molécula distinta a un anticuerpo intacto que comprende una porción de un anticuerpo intacto que se une al antígeno al que se une el anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen, entre otros, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; diacuerpos; anticuerpos lineales;

moléculas de anticuerpos monocatenarios (por ejemplo, scFv y scFab); anticuerpos de dominio único (dAb); y anticuerpos multiespecíficos formados de fragmentos de anticuerpos. Para obtener una reseña de determinados fragmentos de anticuerpos, ver Holliger y Hudson, *Nature Biotechnology* 23:1126-1136 (2005).

[0036] Un “dominio de unión” de un anticuerpo, como se usa en la presente, se refiere a una porción de un dominio variable que es suficiente para unirse al antígeno. En algunas formas de realización, un dominio de unión comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada (HC) y CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena liviana (LC). En algunas formas de realización, un dominio de unión comprende CDR1, FR2, CDR2, FR3 y CDR3 de la cadena pesada (HC) y CDR1, FR2, CDR2, FR3 y CDR3 de la cadena liviana (LC).

[0037] El término “epítipo” indica el sitio en un antígeno, ya sea proteico o no proteico, al que se une un anticuerpo anti-KLK7 o anticuerpo anti-KLK5. Los epítipos se pueden formar de tramos de aminoácidos contiguos (epítipo lineal) o comprender aminoácidos no contiguos (epítipo conformacional), por ejemplo, que aparecen en proximidad espacial debido al plegamiento del antígeno, es decir, por el plegamiento terciario de un antígeno proteico. En general, los epítipos lineales aún se unen a un anticuerpo después de la exposición del antígeno proteico a agentes desnaturalizantes, mientras que los epítipos conformacionales generalmente se destruyen luego del tratamiento con agentes desnaturalizantes. Un epítipo comprende al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o 8-10 aminoácidos en una conformación espacial única.

[0038] El cribado de anticuerpos que se unen a un epítipo particular (es decir, aquellos que se unen al mismo epítipo) se pueden hacer usando métodos de rutina en el estado de la técnica, tales como, entre otros, barrido de alanina, transferencia de péptidos (ver *Meth. Mol. Biol.* 248 (2004) 443-463), análisis de escisión de péptidos, escisión de epítipos, extracción de epítipos, modificación química de antígenos (ver *Prot. Sci.* 9 (2000) 487-496) y bloqueo cruzado (ver “Antibodies”, Harlow y Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY).

[0039] El perfil del anticuerpo basado en la estructura del antígeno (ASAP), también conocido como perfil asistido con modificación (MAP), permite agrupar una multitud de anticuerpos monoclonales que se unen específicamente a KLK7 o KLK5 en función del perfil de unión de cada uno de los anticuerpos de la multitud a superficies de anticuerpo modificada química o enzimáticamente (ver, por ejemplo, US 2004/0101920). Los anticuerpos en cada agrupamiento se unen al mismo epítipo que

puede ser un epítipo único que es distintivamente diferente de o se superpone parcialmente con el epítipo representado por otro agrupamiento.

[0040] Además, la unión competitiva se puede usar para determinar fácilmente si un anticuerpo se une al mismo epítipo de KLK7 como, o compite por unirse a, un anticuerpo anti-KLK7. Por ejemplo, un “anticuerpo que se une al mismo epítipo” como un anticuerpo anti-KLK7 de referencia se refiere a un anticuerpo que bloquea la unión del anticuerpo anti-KLK7 de referencia, respectivamente, a su antígeno en un ensayo de competencia por 50 % o más, y por el contrario, el anticuerpo de referencia bloquea la unión del anticuerpo a su antígeno en un ensayo de competencia por 50 % o más. Asimismo, por ejemplo, para determinar si un anticuerpo se une al mismo epítipo como un anticuerpo anti-KLK7 de referencia, el anticuerpo de referencia se une a KLK7 en condiciones de saturación. Después de eliminar el exceso del anticuerpo anti-KLK7 de referencia, se evalúa la capacidad del anticuerpo anti-KLK7 en cuestión de unirse a KLK7. Si el anticuerpo anti-KLK7 puede unirse a KLK7 después de la unión de saturación del anticuerpo anti-KLK7 de referencia, se puede concluir que el anticuerpo anti-KLK7 en cuestión se une a un epítipo diferente del anticuerpo anti-KLK7 de referencia. Sin embargo, si el anticuerpo anti-KLK7 en cuestión no puede unirse a KLK7 después de la unión del anticuerpo anti-KLK7 de referencia, entonces el anticuerpo anti-KLK7 en cuestión puede unirse al mismo epítipo que el epítipo unido al anticuerpo anti-KLK7 de referencia. Para confirmar si el anticuerpo en cuestión se une al mismo epítipo o si se ve obstaculizado para unirse por motivos estéricos, se puede usar experimentación de rutina (por ejemplo, mutación de péptidos y análisis de unión mediante ELISA, RIA, resonancia de plasmones superficiales, citometría de flujo o cualquier otro ensayo de unión al anticuerpo cuantitativo o cualitativo disponible en el estado de la técnica). Este ensayo debería llevarse a cabo en dos configuraciones, es decir, en donde ambos anticuerpos sean el anticuerpo de saturación. Si en ambas configuraciones solo el primer anticuerpo (de saturación) puede unirse a KLK7, entonces se puede concluir que el anti-KLK7 anticuerpo en cuestión y el anticuerpo anti-KLK7 de referencia compiten por unirse a KLK7.

[0041] De manera similar, la unión competitiva se puede usar para determinar fácilmente si un anticuerpo se une al mismo epítipo de KLK5 como, o compite por unirse a, un anticuerpo anti-KLK5. Por ejemplo, un “anticuerpo que se une al mismo epítipo” como un anticuerpo anti-KLK5 de referencia se refiere a un anticuerpo que bloquea la unión del anticuerpo anti-KLK5 de referencia, respectivamente, a su antígeno en un ensayo de competencia por 50 % o más, y por el contrario, el

anticuerpo de referencia bloquea la unión del anticuerpo a su antígeno en un ensayo de competencia por 50 % o más. Asimismo, por ejemplo, para determinar si un anticuerpo se une al mismo epítipo como un anticuerpo anti-KLK5 de referencia, el anticuerpo de referencia se une a KLK5 en condiciones de saturación. Después de eliminar el exceso del anticuerpo anti-KLK5 de referencia, se evalúa la capacidad del anticuerpo anti-KLK5 en cuestión de unirse a KLK5. Si el anticuerpo anti-KLK5 puede unirse a KLK5 después de la unión de saturación del anticuerpo anti-KLK5 de referencia, se puede concluir que el anticuerpo anti-KLK5 en cuestión se une a un epítipo diferente del anticuerpo anti-KLK5 de referencia. Sin embargo, si el anticuerpo anti-KLK5 en cuestión no puede unirse a KLK5 después de la unión del anticuerpo anti-KLK5 de referencia, entonces el anticuerpo anti-KLK5 en cuestión puede unirse al mismo epítipo que el epítipo unido al anticuerpo anti-KLK5 de referencia. Para confirmar si el anticuerpo en cuestión se une al mismo epítipo o si se ve obstaculizado para unirse por motivos estéricos, se puede usar experimentación de rutina (por ejemplo, mutación de péptidos y análisis de unión mediante ELISA, RIA, resonancia de plasmones superficiales, citometría de flujo o cualquier otro ensayo de unión al anticuerpo cuantitativo o cualitativo disponible en el estado de la técnica). Este ensayo debería llevarse a cabo en dos configuraciones, es decir, en donde ambos anticuerpos sean el anticuerpo de saturación. Si en ambas configuraciones solo el primer anticuerpo (de saturación) puede unirse a KLK5, entonces se puede concluir que el anti-KLK5 anticuerpo en cuestión y el anticuerpo anti-KLK5 de referencia compiten por unirse a KLK5.

[0042] En algunos aspectos, se considera que dos anticuerpos se unen al mismo epítipo o a un epítipo superpuesto si un exceso de 1, 5, 10, 20 o 100 veces de un anticuerpo inhibe la unión del otro en al menos 50 %, al menos 75 %, al menos 90 % o incluso 99 % o más, según se mida en un ensayo de unión competitiva (ver, por ejemplo, Junghans *et al.*, Cancer Res. 50 (1990) 1495-1502).

[0043] En algunos aspectos, se considera que dos anticuerpos se unen el mismo epítipo si esencialmente todas las mutaciones de aminoácidos en el antígeno que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo también reducen o eliminan la unión del otro. Se considera que dos anticuerpos tienen “epítopos superpuestos” si solo un subconjunto de las mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reduce o elimina la unión del otro.

[0044] La expresión anticuerpo “quimérico” se refiere a un anticuerpo en donde una porción de la cadena pesada y/o liviana deriva de una fuente o especies en particular,

mientras que el resto de la cadena pesada y/o liviana deriva de fuentes o especies diferentes.

[0045] La “clase” de un anticuerpo se refiere al tipo de dominio constante o región constante que posee su cadena pesada. Existen cinco clases principales de anticuerpos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varias de estas pueden también dividirse en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂. En algunos aspectos, el anticuerpo es del isotipo IgG₁. En algunos aspectos, el anticuerpo es del isotipo IgG₁ con mutación P329G, L234A y L235A para reducir la función efectora de la región Fc. En otros aspectos, el anticuerpo es del isotipo IgG₂. En algunos aspectos, el anticuerpo es del isotipo IgG₄ con la mutación S228P en la región bisagra para mejorar la estabilidad del anticuerpo IgG₄. Los dominios constantes de la cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan α , δ , ϵ , γ y μ , respectivamente. La cadena liviana de un anticuerpo puede asignarse a uno de dos tipos, denominados kappa (κ) y lambda (λ), en función de la secuencia de aminoácidos de su dominio constante.

[0046] Las “funciones efectoras” se refieren a aquellas actividades biológicas que se atribuyen a la región Fc de un anticuerpo, que varían con el isotipo del anticuerpo. Los ejemplos de funciones efectoras del anticuerpo incluyen: citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y unión a C1q; unión a receptor de Fc; citotoxicidad celular dependiente del anticuerpo (ADCC); fagocitosis; regulación descendente de receptores de superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B); y activación de linfocitos B.

[0047] Una “cantidad eficaz” de un agente, por ejemplo, una composición farmacéutica, se refiere a una cantidad que es eficaz, en dosis y por períodos necesarios, para lograr el resultado terapéutico o profiláctico deseado.

[0048] La expresión “región Fc” se usa en la presente para definir una región del terminal C de una cadena pesada de inmunoglobulina que contiene al menos una porción de la región constante. La expresión incluye regiones Fc de secuencia nativa y regiones Fc variantes. En un aspecto, una región Fc de la cadena pesada de IgG humana se extiende desde Cys226, o desde Pro230, al terminal carboxilo de la cadena pesada. Sin embargo, los anticuerpos producidos por las células huésped se pueden someter a escisión posterior a la traducción de uno o más, en particular, uno o dos, aminoácidos del terminal C de la cadena pesada. Por lo tanto, un anticuerpo producido por una célula huésped mediante la expresión de una molécula de ácido nucleico específica que codifica la cadena pesada de longitud completa puede incluir

la cadena pesada de longitud completa o puede incluir una variante escindida de la cadena pesada de longitud completa. Esto también puede ocurrir cuando los dos aminoácidos finales del terminal C de la cadena pesada son glicina (G446) y lisina (K447, numeración de acuerdo con el índice EU). Por lo tanto, la lisina (Lys447) del terminal C, o la glicina (Gly446) y lisina (Lys447) del terminal C, de la región Fc pueden estar presentes o no. De este modo, un “IgG1 de longitud completa”, por ejemplo, incluye una IgG1 con Gly446 y Lys447, o sin Lys447, o sin Gly446 ni Lys447. Las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesadas que incluyen una región Fc se indican en la presente sin el dipéptido de glicina-lisina del terminal C si no se indica lo contrario. En un aspecto, una cadena pesada que incluye una región Fc como se especifica en la presente, comprendida en un anticuerpo de acuerdo con la invención, puede comprender Gly446 y Lys447 (numeración de acuerdo con el índice EU). En un aspecto, una cadena pesada que incluye una región Fc como se especifica en la presente, comprendida en un anticuerpo de acuerdo con la invención, puede comprender Gly446 (numeración de acuerdo con el índice EU). A menos que se especifique de otro modo en la presente, la numeración de los residuos de aminoácidos en la región Fc o región constante se realiza de acuerdo con el sistema de numeración EU, también denominado índice EU, como se describe en Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

[0049] La región “marco” o “FR” se refiere a los residuos de dominio variable distintos de las regiones determinantes de la complementariedad (CDR). La FR de un dominio variable generalmente consiste en cuatro dominios de FR: FR1, FR2, FR3 y FR4. En consecuencia, en general las secuencias de CDR y FR aparecen en la siguiente secuencia en VH (o VL): FR1-CDR-H1(CDR-L1)-FR2- CDR-H2(CDR-L2)-FR3- CDR-H3(CDR-L3)-FR4.

[0050] Las expresiones “anticuerpo de longitud completa”, “anticuerpo intacto” y “anticuerpo completo” se usan en la presente de manera indistinta para hacer referencia a un anticuerpo que tiene una estructura sustancialmente similar a una estructura de anticuerpo nativo o que tiene cadenas pesadas que contienen una región Fc como se define en la presente.

[0051] Las expresiones “célula huésped”, “línea celular huésped” y “cultivo de células huésped” se usan de manera indistinta y se refieren a células en las que introdujo un ácido nucleico exógeno, que incluye la progenie de tales células. Las células huésped incluyen “transformantes” y “células transformadas”, que incluyen la célula

transformada primaria y la progenie derivada de estas, independientemente de la cantidad de pases. La progenie puede no ser idéntica por completo en el contenido de ácido nucleico con respecto a una célula de origen, pero puede contener mutaciones. En la presente se incluyen progenies mutantes que pueden tener la misma función o actividad biológica que se identifica o selecciona en la célula transformada originalmente.

[0052] Un “anticuerpo humano” es uno que tiene una secuencia de aminoácidos que corresponde a la de un anticuerpo producido por un ser humano o una célula humana o derivado de una fuente no humana que utiliza repertorios de anticuerpos humanos u otras secuencias que codifican anticuerpos humanos. Esta definición de un anticuerpo humano excluye específicamente un anticuerpo humanizado que comprende residuos de unión al antígeno no humanos.

[0053] Un “marco de consenso humano” es un marco que representa los residuos de aminoácidos que ocurren más comúnmente en una selección de secuencias de marco de VL o VH de inmunoglobulina humana. En general, la selección de secuencias de VL o VH de inmunoglobulina humana es de un subgrupo de secuencias de dominio variable. Generalmente, el subgrupo de secuencias es un subgrupo como en Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a edición, publicación NIH 91-3242, Bethesda MD (1991), vol. 1-3. En un aspecto, para la VL, el subgrupo es el subgrupo kappa I como en Kabat *et al.*, más arriba. En un aspecto, para la VH, el subgrupo es el subgrupo kappa III como en Kabat *et al.*, más arriba.

[0054] Un anticuerpo “humanizado” se refiere a un anticuerpo quimérico que comprende residuos de aminoácidos de CDR no humanas y residuos de aminoácidos de FR humanas. En algunos aspectos, un anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente todos de al menos un, y generalmente dos, dominios variables, en donde todas o sustancialmente todas las CDR corresponden a aquellas de un anticuerpo no humano, y todas o sustancialmente todas las FR corresponden a aquellas de un anticuerpo humano. Un anticuerpo humanizado opcionalmente puede comprender al menos una porción de una región constante del anticuerpo derivada de un anticuerpo humano. Una “forma humanizada” de un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo no humano, se refiere a un anticuerpo que se sometió a humanización.

[0055] La expresión “región hipervariable” o “HVR”, como se usa en la presente, se refiere a cada una de las regiones de un dominio variable de anticuerpo que son hipervariables en secuencia y que determinan la especificidad de unión al antígeno, por ejemplo, las “regiones determinantes de la complementariedad” (“CDR”).

[0056] En general, los anticuerpos comprenden seis CDR: tres en la VH (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) y tres en la VL (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3). Los ejemplos de CDR de la presente incluyen:

(a) bucles hipervariables en los residuos de aminoácidos 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) (Chothia y Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987));

(b) CDR en los residuos de aminoácidos 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) (Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)); y

(c) contactos con el antígeno en residuos de aminoácidos 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2) y 93-101 (H3) (MacCallum *et al.*, *J. Mol. Biol.* 262: 732-745 (1996)).

[0057] A menos que se indique lo contrario, las CDR se determinan de acuerdo con Kabat *et al.*, más arriba. Una persona del oficio de nivel medio entenderá que las designaciones de CDR también se pueden determinar de acuerdo con Chothia, más arriba, McCallum, más arriba, o cualquier otro sistema de nomenclatura aceptado científicamente. En un aspecto, los residuos de CDR comprenden aquellos identificados en las Figuras 1-3, o en otra parte en la memoria descriptiva.

[0058] Un “inmunoconjugado” es un anticuerpo conjugado con una o más moléculas heterólogas, que incluyen, entre otros, un agente citotóxico.

[0059] Un “individuo” o un “sujeto” es un mamífero. Los mamíferos incluyen, entre otros, animales domesticados (por ejemplo, vacas, ovejas, gatos, perros y caballos), primates (por ejemplo, humanos y primates no humanos, tales como monos), conejos y roedores (por ejemplo, ratones y ratas). En algunos aspectos, el individuo o sujeto es un ser humano.

[0060] Un anticuerpo “aislado” es un anticuerpo que se separó de un componente de su entorno natural. En algunos aspectos, un anticuerpo se purifica hasta más de 95 % o 99 % de pureza, según se determina mediante, por ejemplo, métodos electroforéticos (por ejemplo, SDS-PAGE, enfoque isoelectrico (IEF), electroforesis capilar) o cromatográficos (por ejemplo, HPLC de fase inversa o de intercambio iónico). Para reseñas sobre métodos de evaluación de la pureza del anticuerpo, ver, por ejemplo, Flatman *et al.*, *J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007).

[0061] El término “ligado”, cuando se usa en el contexto de dos polipéptidos, significa que los polipéptidos son parte de la misma secuencia de aminoácidos. Dos

polipéptidos que están ligados pueden estar separados por una secuencia de aminoácidos adicional; es decir, no necesitan estar ligados de manera contigua o directa entre sí.

[0062] La expresión “molécula de ácido nucleico” o “polinucleótido” incluye cualquier compuesto y/o sustancia que comprende un polímero de nucleótidos. Cada nucleótido está compuesto de una base, específicamente una base de purina o pirimidina (es decir, citosina (C), guanina (G), adenina (A), timina (T) o uracilo (U)), un azúcar (es decir, desoxirribosa o ribosa) y un grupo fosfato. A menudo, la molécula de ácido nucleico se describe mediante la secuencia de bases, en donde dichas bases representan la estructura primaria (estructura lineal) de una molécula de ácido nucleico. La secuencia de bases, en general, se representa de 5' a 3'. En la presente, la expresión “molécula de ácido nucleico” abarca ácido desoxirribonucleico (ADN) que incluye, por ejemplo, ADN complementario (cADN) y ADN genómico, ácido ribonucleico (ARN), en particular ARN mensajero (mARN), formas sintéticas de ADN o ARN, y polímeros mezclados que comprenden dos o más de estas moléculas. La molécula de ácido nucleico puede ser lineal o circular. Además, la expresión “molécula de ácido nucleico” incluye las cadenas sentido y antisentido, así como formas monocatenarias y bicatenarias. Asimismo, la molécula de ácido nucleico descrita en la presente puede contener nucleótidos naturales o no naturales. Los ejemplos de nucleótidos no naturales incluyen bases de nucleótidos modificadas con azúcares derivatizados o enlaces de estructura de fosfato o residuos modificados químicamente. Las moléculas de ácido nucleico también abarcan moléculas de ADN y ARN que son adecuadas como vectores para la expresión directa de un anticuerpo de la invención *in vitro* e/o *in vivo*, por ejemplo, en un huésped o paciente. Dichos vectores de ADN (por ejemplo, cADN) o ARN (por ejemplo, mARN) pueden ser modificados o no modificados. Por ejemplo, el mARN se puede modificar químicamente para mejorar la estabilidad del vector de ARN y/o la expresión de la molécula codificada de modo que se puede inyectar mARN en un sujeto para generar el anticuerpo *in vivo* (ver, por ejemplo, Stadler *et al*, Nature Medicine 2017, publicado en línea el 12 de junio de 2017, doi:10.1038/nm.4356 o EP 2 101 823 B1).

[0063] Un ácido nucleico “aislado” se refiere a una molécula de ácido nucleico que se separó de un componente de su entorno natural. Un ácido nucleico aislado incluye una molécula de ácido nucleico contenida en células que, en general, contienen la molécula de ácido nucleico, pero la molécula de ácido nucleico está presente de manera extracromosómica o en una ubicación cromosómica que es diferente de su

ubicación cromosómica natural.

[0064] La expresión “ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo anti-KLK7” se refiere a una o más moléculas de ácido nucleico que codifican las cadenas pesada y liviana del anticuerpo anti-KLK7 (o fragmentos de este), que incluyen moléculas de ácido nucleico en un solo vector o vectores separados, y moléculas de ácido nucleico presentes en una o más ubicaciones en una célula huésped.

[0065] La expresión “ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo anti-KLK5” se refiere a una o más moléculas de ácido nucleico que codifican las cadenas pesada y liviana del anticuerpo anti-KLK5 (o fragmentos de este), que incluyen moléculas de ácido nucleico en un solo vector o vectores separados, y moléculas de ácido nucleico presentes en una o más ubicaciones en una célula huésped.

[0066] La expresión “ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7” se refiere a una o más moléculas de ácido nucleico que codifican las cadenas pesada y liviana del anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7 (o fragmentos de este), que incluyen moléculas de ácido nucleico en un solo vector o vectores separados, y moléculas de ácido nucleico presentes en una o más ubicaciones en una célula huésped.

[0067] La expresión “anticuerpo monoclonal ”, como se usa en la presente, se refiere un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos y/o se unen al mismo epítipo, excepto por las posibles variantes de anticuerpos, por ejemplo, que contienen mutaciones naturales o que surgen durante la producción de la preparación de anticuerpo monoclonal, variantes que generalmente están presentes en cantidades menores. A diferencia de las preparaciones de anticuerpos policlonales, que generalmente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítopos), cada anticuerpo monoclonal de una preparación de anticuerpo monoclonal se dirige contra un único determinante en el antígeno. De este modo, el modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, y no debe interpretarse que requiere la producción del anticuerpo mediante ningún método particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales de acuerdo con la presente invención pueden fabricarse a partir de diversas técnicas, que incluyen, entre otras, el método de hibridoma, métodos de ADN recombinante, métodos de expresión de fagos y métodos que utilizan animales transgénicos que contienen la totalidad o parte de los sitios de inmunoglobulina humana. Dichos métodos y otros métodos de ejemplo para

la fabricación de anticuerpos monoclonales se describen en la presente.

[0068] Un “anticuerpo desnudo” se refiere a un anticuerpo que no se conjuga con una porción heteróloga (por ejemplo, una porción citotóxica) o radioetiquetada. El anticuerpo desnudo puede estar presente en una composición farmacéutica.

[0069] Los “anticuerpos nativos” se refieren a moléculas de inmunoglobulina natural con diversas estructuras. Por ejemplo, los anticuerpos IgG nativos son glucoproteínas heterotetraméricas de alrededor de 150.000 dáltones, compuestas por dos cadenas livianas idénticas y dos cadenas pesadas idénticas unidas mediante un enlace disulfuro. Desde el terminal N al C, cada cadena pesada tiene dominio variable (VH), también denominada dominio pesado variable o región variable de la cadena pesada, seguida por tres dominios pesados constantes (CH1, CH2 y CH3). De manera similar, desde el terminal N al C, cada cadena liviana tiene un dominio variable (VL), también denominado dominio liviano variable o región variable de la cadena liviana, seguida por un dominio liviano constante (CL).

[0070] El término “prospecto” se refiere a las instrucciones que habitualmente se incluyen en los envases comerciales de productos terapéuticos que contienen información sobre las indicaciones, el uso, dosis, administración, tratamiento conjunto, contraindicaciones y/o advertencias de uso de dichos productos terapéuticos.

[0071] El “porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos” con respecto a una secuencia de polipéptidos de referencia se define como el porcentaje de residuos de aminoácidos en una secuencia candidata que son idénticos a los residuos de aminoácidos en la secuencia de polipéptidos de referencia, después de alinear las secuencias e introducir espacios, de ser necesario, para alcanzar el porcentaje máximo de identidad de secuencia, y de no tener en cuenta ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia a los fines de la alineación. La alineación, a fines de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos, se puede lograr de diversas maneras que están dentro del estado de la técnica, por ejemplo, al usar *software* informático disponible al público tal como *software* BLAST, BLAST-2, Clustal W, Megalign (DNASTAR) o el paquete de programas FASTA. Las personas del oficio de nivel medio pueden determinar parámetros adecuados para alinear secuencias, que incluyen cualquier algoritmo necesario para lograr la alineación máxima en la longitud completa de las secuencias que se están comparando. De manera alternativa, los valores de porcentaje de identidad se pueden generar usando un programa informático de comparación de secuencias ALIGN-2. El programa informático de comparación de secuencias ALIGN-2

fue creado por Genentech, Inc., y el código fuente se presentó con documentación del usuario en la Oficina del Derecho de Autor de los Estados Unidos de América, Washington D.C., 20559, en donde se registró con el N.º de registro de derechos de autor de los Estados Unidos de América TXU510087 y se describe en WO 2001/007611.

[0072] A menos que se indique lo contrario, a los fines de la presente, se generan valores de porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos mediante el programa ggsearch del paquete FASTA, versión 36.3.8c o posterior, con una matriz de comparación BLOSUM50. El paquete de programas FASTA fue creado por W. R. Pearson y D. J. Lipman (1988), "Improved Tools for Biological Sequence Analysis", PNAS 85:2444-2448; W. R. Pearson (1996) "Effective protein sequence comparison" Meth. Enzymol. 266:227- 258; y Pearson *et. al.* (1997) Genomics 46:24-36 y está disponible al público en www.fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/fasta_down.shtml o www.ebi.ac.uk/Tools/sss/fasta. Alternativamente, se puede usar un servidor público al que se puede acceder en fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/index.cgi para comparar las secuencias, usando el programa ggsearch (global protein:protein) y las opciones por defecto (BLOSUM50; open: -10; ext: -2; Ktup = 2) para garantizar que se realice una alineación global, más que local. El porcentaje de identidad de aminoácidos se proporciona en el encabezado de alineación de salida.

[0073] La expresión "composición farmacéutica" o "formulación farmacéutica", como se definió en la presente, se refiere a una preparación que está en una forma que permite que la actividad biológica de un ingrediente activo contenido en esta sea efectiva, y que no contiene componentes adicionales que sean inaceptablemente tóxicos para un sujeto al que se le administraría la composición farmacéutica.

[0074] Un "portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico" se refiere a un ingrediente en una formulación o composición farmacéutica, distinto a un ingrediente activo, que no es tóxico para un sujeto. Un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico incluye, entre otros, un amortiguador, excipiente, estabilizante o conservante.

[0075] Las expresiones "KLK5" y "peptidasa relacionada con calicreína 5", como se usan en la presente, se refieren a cualquier KLK5 nativo de cualquier fuente vertebrada, que incluye mamíferos, tales como primates (por ejemplo, seres humanos) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas), a menos que se indique lo contrario. Las expresiones abarcan KLK5 sin procesar "de longitud completa", así como cualquier forma de KLK5 que resulte del procesamiento en la célula. Las expresiones también

abarcen variantes naturales de KLK5, por ejemplo, variantes de empalme o variantes alélicas. La secuencia de aminoácidos de una proteína KLK5 precursora humana de ejemplo se muestra en SEQ ID NO: 1 (UniProtKB/Swiss-Prot: Q9Y337.3). La secuencia de aminoácidos de una proteína KLK5 madura humana de ejemplo, que carece del péptido de señal (aminoácidos 1-22) y propéptido (aminoácidos 23-66) se muestra en SEQ ID NO: 2. La secuencia de aminoácidos de una proteína KLK5 precursora de mono *Macaca fascicularis* de ejemplo se muestra en SEQ ID NO: 100 (UniProtKB: A0A2K5W0T6). La secuencia de aminoácidos de una proteína KLK5 madura de mono *Macaca fascicularis* de ejemplo, que carece del péptido de señal (aminoácidos 1-22) y propéptido (aminoácidos 23-64) se muestra en SEQ ID NO: 101.

[0076] Las expresiones “KLK7” y “peptidasa relacionada con calicreína 7”, como se usan en la presente, se refieren a cualquier KLK7 nativo de cualquier fuente vertebrada, que incluye mamíferos, tales como primates (por ejemplo, seres humanos) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas), a menos que se indique lo contrario. Las expresiones abarcan KLK7 sin procesar “de longitud completa”, así como cualquier forma de KLK7 que resulte del procesamiento en la célula. Las expresiones también abarcan variantes naturales de KLK7, por ejemplo, variantes de empalme o variantes alélicas. La secuencia de aminoácidos de una proteína KLK7 precursora humana de ejemplo se muestra en SEQ ID NO: 3 (UniProtKB/Swiss-Prot: P49862.1). La secuencia de aminoácidos de una proteína KLK7 madura humana de ejemplo, que carece del péptido de señal (aminoácidos 1-22) y propéptido (aminoácidos 23-29) se muestra en SEQ ID NO: 4. La secuencia de aminoácidos de una proteína KLK7 precursora de mono *Macaca fascicularis* de ejemplo se muestra en SEQ ID NO: 5 (UniProtKB: G7PYG2). La secuencia de aminoácidos de una proteína KLK7 madura de mono *Macaca fascicularis* de ejemplo, que carece del péptido de señal (aminoácidos 1-21) y propéptido (aminoácidos 22-29) se muestra en SEQ ID NO: 6.

[0077] Como se usa en la presente, “tratamiento” (y sus variaciones gramaticales tales como “tratar” o “que se trata”) se refiere a una intervención clínica en un intento de alterar el curso natural de una enfermedad en el individuo que está en tratamiento y se puede llevar a cabo para profilaxis o durante el curso de una patología clínica. Los efectos deseables del tratamiento incluyen, entre otros, la prevención de la aparición o recidiva de la enfermedad, el alivio de los síntomas, la disminución de cualquier consecuencia patológica directa o indirecta de la enfermedad, la prevención de la metástasis, la disminución de la tasa de progresión de la enfermedad, la mejora o la paliación del estado patológico y la remisión o pronóstico mejorado. En algunos

aspectos, los anticuerpos de la invención se usan para retrasar el desarrollo de una enfermedad o ralentizar la progresión de una enfermedad.

[0078] La expresión "región variable" o "dominio variable" se refiere al dominio de una cadena pesada o liviana de un anticuerpo que participa en la unión del anticuerpo al antígeno. Los dominios variables de la cadena pesada y la cadena liviana (VH y VL, respectivamente) de un anticuerpo nativo generalmente tienen estructuras similares, en donde cada dominio comprende cuatro regiones de marco (FR) conservadas y tres regiones determinantes de la complementariedad (CDR). Ver, por ejemplo, Kindt *et al. Kuby Immunology*, 6.^a ed., W.H. Freeman and Co., página 91 (2007). Un dominio variable puede comprender CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3 de la cadena pesada (HC) con o sin la totalidad o una porción de FR1 y/o FR4; y CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3 de cadena liviana (LC) con o sin la totalidad o una porción de FR1 y/o FR4. Es decir, un dominio variable puede carecer de una porción de FR1 y/o FR4 siempre que conserve la actividad de unión al antígeno. Un único dominio VH o VL puede ser suficiente para conferir especificidad de unión al antígeno. Asimismo, los anticuerpos que se unen a un antígeno particular se pueden aislar usando un dominio VH o VL de un anticuerpo que se une al antígeno para cribar una colección de dominios VL o VH complementarios, respectivamente. Ver, por ejemplo, Portolano *et al.*, *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson *et al.*, *Nature* 352:624-628 (1991).

[0079] Como se usa en la presente, el término "vector" se refiere a una molécula de ácido nucleico que puede propagar otro ácido nucleico al que está ligado. El término incluye el vector como una estructura de ácido nucleico de autorreplicación así como el vector incorporado en el genoma de una célula huésped en la que se introdujo. Ciertos vectores son capaces de dirigir la expresión de ácidos nucleicos a los que se ligan operativamente. En la presente, dichos vectores se denominan "vectores de expresión".

II. COMPOSICIONES Y MÉTODOS

[0080] En un aspecto, la invención se base, en parte, en el descubrimiento de que tanto KLK5 como KLK7 pueden tener una función en la permeabilidad de la barrera epitelial. Por lo tanto, inhibir KLK5 y KLK7 puede presentar una eficacia mejorada en el tratamiento de enfermedades asociadas a permeabilidad excesiva de la barrera epitelial. En algunos aspectos, se proporcionan anticuerpos que unen a KLK5. En algunos aspectos, se proporcionan anticuerpos que unen a KLK7. En algunos aspectos, se proporcionan anticuerpos multiespecíficos que se unen a KLK5 y KLK7.

Los anticuerpos de la invención son útiles, por ejemplo, para el diagnóstico y tratamiento del síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y rosácea.

A. Anticuerpos anti-KLK7 de ejemplo

[0081] En un aspecto, la invención proporciona anticuerpos que se unen a KLK7. En un aspecto, se proporcionan anticuerpos aislados que se unen a KLK7. En un aspecto, la invención proporciona anticuerpos que se unen específicamente a KLK7. En algunos aspectos, un anticuerpo anti-KLK7 inhibe la actividad de proteasa KLK7. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK7 inhibe la escisión mediada por KLK7 humana de un sustrato que comprende la secuencia de aminoácidos RPKPVE-Nval-WRK (SEQ ID NO: 121), en donde Nval es norvalina. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK7 inhibe la escisión mediada por KLK7 humana de un sustrato que comprende la secuencia de aminoácidos RPKPVE-Nval-WRK (SEQ ID NO: 121), en donde Nval es norvalina con una IC₅₀ de menos de 5 nM, o menos de 3 nM, o menos de 2 nM, o menos de 1 nM. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK7 inhibe escisión mediada por KLK7 humana de un sustrato que comprende la secuencia de aminoácidos RPKPVE-Nval-WRK (SEQ ID NO: 121), en donde Nval es norvalina, con una IC₅₀ de no más de 5 nM, o de no más de 3 nM, o de no más de 2 nM o de no más de 1 nM. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK7 se une a KLK7 humana con una K_D de menos de 20 pM, menos de 10 pM, o menos de 9 pM, o menos de 8 pM, o menos de 7 pM, o menos de 6 pM, o menos de 5 pM, o menos de 3 pM, o menos de 2 pM, o menos de 1 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK7 se une a KLK7 humana con una K_D de no más de 20 pM, de no más de 10 pM, o de no más de 9 pM, o de no más de 8 pM, o de no más de 7 pM, o de no más de 6 pM, o de no más de 5 pM, o de no más de 3 pM, o de no más de 2 pM, o de no más de 1 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales.

[0082] En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK7 se une a un epítipo dentro de los aminoácidos R71-N82, K152-S158 y/o Q211-K222 de KLK7, en donde los aminoácidos están numerados de acuerdo con SEQ ID NO: 4. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-KLK7 entra en contacto con al menos un aminoácido dentro de los aminoácidos R71-N82, entra en contacto con al menos un aminoácido dentro de los aminoácidos K152-S158, y entra en contacto con al menos un aminoácido dentro de los aminoácidos Q211-K222 de KLK7, según la numeración de

acuerdo con SEQ ID NO: 4. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK7 se une a un epítipo que comprende uno o más de los aminoácidos H72, P73, G74, S76, Q78, N82, N157, K211, y/o T213 de KLK7, según la numeración de acuerdo con SEQ ID NO: 4. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK7 se une a un epítipo que comprende uno o más de los aminoácidos H91, P92, G93, S95, Q97, N101, N178, K233 y/o T235 de KLK7, mediante numeración de quimotripsina. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK7 se une a un epítipo que comprende los aminoácidos H72, P73, G74, S76, Q78, N82, N157, K211 y T213 de KLK7, según la numeración de acuerdo con SEQ ID NO: 4. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK7 se une a un epítipo que comprende los aminoácidos H91, P92, G93, S95, Q97, N101, N178, K233 y T235 de KLK7, mediante numeración de quimotripsina.

[0083] En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK7, cuando se une a KLK7, da como resultado un cambio conformacional de KLK7 humana, en donde el cambio conformacional resulta alostéricamente en la interrupción del sitio de unión al sustrato y/o el sitio activo de KLK7 humana.

[0084] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-KLK7 no se une a KLK5. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-KLK7 no se une a KLK1, KLK4, KLK5, KLK11 y KLK14. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-KLK7 se une a KLK7 humana y KLK7 de *Macaca fascicularis*.

[0085] En un aspecto, la invención proporciona un anticuerpo anti-KLK7 que comprende al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, o las seis CDR seleccionadas de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.

[0086] En un aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias VH CDR seleccionadas de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9. En un aspecto, el anticuerpo comprende CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ

ID NO:9. En otro aspecto, el anticuerpo comprende CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9 y CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12. En otro aspecto, el anticuerpo comprende CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9, CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12, y CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8. En otro aspecto, el anticuerpo comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7, (b) una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8, o (c) una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9.

[0087] En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias VL CDR seleccionadas de (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12. En un aspecto, el anticuerpo comprende (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.

[0088] En otro aspecto, un anticuerpo de la invención comprende (a) un dominio VH que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias VH CDR seleccionadas de (i) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7, (ii) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8, y (iii) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9; y (b) un dominio VL que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias VL CDR seleccionadas de (i) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10, (ii) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11, y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:12.

[0089] En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.

[0090] En cualquiera de los aspectos proporcionados en la presente, un anticuerpo anti-KLK7 es humanizado. En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 también comprende un marco aceptor humano, por ejemplo, un marco de inmunoglobulina humano o un marco de consenso humano.

[0091] En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VH que comprende una o más secuencias de marco de la cadena pesada seleccionadas de (a) una región de marco de la cadena pesada 1 (HC-FR1) de SEQ ID NO:123-128, (b) una región de marco de la cadena pesada 2 (HC-FR2) de SEQ ID NO:130-133, (c) una región de marco de la cadena pesada 3 (HC-FR3) de SEQ ID NO:135-143, y (d) una región de marco de la cadena pesada 4 (HC-FR4) de SEQ ID NO:144-145.

[0092] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR1 de SEQ ID NO: 123-128. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR2 de SEQ ID NO:130-133. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR3 de SEQ ID NO:135-143. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR4 de SEQ ID NO:144-145.

[0093] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR1 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:123-128. En un aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR1 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:123-128. En otro aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR1 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:123-128.

[0094] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR2 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO:130-133. En un aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR2 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:130-133. En otro aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR2 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:130-133.

[0095] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR3 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO:135-143. En un aspecto, el dominio VH comprende una HC-

FR3 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:135-143. En otro aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR3 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:135-143.

[0096] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR4 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO:144-145. En un aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR4 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:144-145. En otro aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR4 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:144-145.

[0097] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VL que comprende una o más secuencias de marco de la cadena liviana seleccionadas de (a) una región de marco de la cadena liviana 1 (LC-FR1) de SEQ ID NO:147-150, (b) una región de marco de la cadena liviana 2 (LC-FR2) de SEQ ID NO:152-154, (c) una región de marco de la cadena liviana 3 (LC-FR3) de SEQ ID NO:156-158, y (d) una región de marco de la cadena liviana 4 (LC-FR4) de SEQ ID NO:160.

[0098] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR1 de SEQ ID NO:147-150. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR2 de SEQ ID NO:152-154. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR3 de SEQ ID NO:156-158. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VL que comprende a LC-FR4 de SEQ ID NO:160.

[0099] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR1 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO:147-150. En un aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR1 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:147-150. En otro aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR1 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:147-150.

[00100] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR2 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO:152-154. En un aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR2 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:152-154. En otro aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR2 de al menos 98 % de identidad de

secuencia con SEQ ID NO:152-154.

[00101] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR3 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO:156-158. En un aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR3 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:156-158. En otro aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR3 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 156-158.

[00102] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR4 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO:160. En un aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR1 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 160. En otro aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR1 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:160.

[00103] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende una o más de las secuencias de CDR de una VH seleccionadas de SEQ ID NO: 13 y 15-30. En otra forma de realización, un anticuerpo anti-KLK7 comprende una o más de las secuencias de CDR de una VL seleccionadas de SEQ ID NO: 14 y 31-38. En otra forma de realización, un anticuerpo anti-KLK7 comprende las secuencias de CDR de una VH seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30 y las secuencias de CDR de una VL seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38.

[00104] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende las secuencias de aminoácidos de CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 de una VH seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30 y las secuencias de aminoácidos de CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 de una VL seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38.

[00105] En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende una o más de las secuencias de aminoácidos de CDR de la cadena pesada de una VH seleccionadas de SEQ ID NO: 13 y 15-30 y un marco de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco de una VH seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30. En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK7 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de la cadena pesada de una VH seleccionadas de SEQ ID NO: 13 y 15-30 y un marco de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia

con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco de una VH seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30. En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK7 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de la cadena pesada de una VH seleccionadas de SEQ ID NO: 13 y 15-30 y un marco de al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco de una VH seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30. En otro aspecto, el anticuerpo anti-KLK7 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de la cadena pesada de una VH seleccionadas de SEQ ID NO: 13 y 15-30 y un marco de al menos 98 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco de una VH seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30.

[00106] En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende una o más de las secuencias de aminoácidos de CDR de la cadena liviana de una VL seleccionadas de SEQ ID NO: 14 y 31-38 y un marco de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco de una VL seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38. En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK7 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de la cadena pesada de una VL seleccionadas de SEQ ID NO: 14 y 31-38 y un marco de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco de una VL seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38. En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK7 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de la cadena liviana de una VL seleccionadas de SEQ ID NO: 14 y 31-38 y un marco de al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco de una VL seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38. En otro aspecto, el anticuerpo anti-KLK7 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de cadena liviana de una VL seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38 y un marco de al menos, en particular, 98 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco de una VL seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38.

[00107] En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK7 comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) CDR-L3 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12, y un dominio VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30, y un dominio VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38. En un aspecto, el dominio VH tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30. En un aspecto, el dominio VL tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38.

[00108] En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK7 comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12, y un dominio VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30, y un dominio VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38; en donde el anticuerpo se une específicamente a KLK7. En un aspecto, el dominio VH tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30. En un aspecto, el dominio VL tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38. En un aspecto, el anticuerpo se une a KLK7 con una constante de disociación (K_D) de menos de 10 pM, o menos de 9 pM, o menos de 8 pM, o menos de 7 pM, o menos de 6 pM, o menos de 5 pM según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales. En un aspecto, el anticuerpo se une a KLK7 con una constante de disociación (K_D) de no más de 10 pM, o de no más de 9 pM, o de no más de 8 pM, o de no más de 7 pM, o de no más de 6 pM, o de no más de 5 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales.

[00109] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende una secuencia de

dominio variable de la cadena pesada (VH) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO:13 y 15-30. En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende una secuencia de dominio variable de la cadena pesada (VH) que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30. En algunos aspectos, una secuencia de VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-KLK7 que comprende esa secuencia mantiene la capacidad de unirse a KLK7. En algunos aspectos, un total de 1 a 10 aminoácidos se sustituyeron, insertaron y/o eliminaron en una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30. En algunos aspectos, las sustituciones, inserciones o eliminaciones se presentan en regiones fuera de las CDR (es decir, en las FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-KLK7 comprende la secuencia de VH en una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30, que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de la secuencia. Opcionalmente, el anticuerpo anti-KLK7 comprende la secuencia de VH en SEQ ID NO: 29 o 30, lo que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de esa secuencia. En un aspecto particular, la VH comprende una, dos o tres CDR seleccionadas de: (a) CDR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:7, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8, y (c) CDR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9. En otro aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-KLK7, en donde el anticuerpo comprende una secuencia de dominio variable de la liviana (VL) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO:14 y 31-38. En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 comprende una secuencia de dominio variable de la cadena liviana (VL) que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO:14 y 31-38. En algunos aspectos, una secuencia de VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-KLK7 que comprende esa secuencia mantiene la capacidad de unirse a KLK7. En algunos aspectos, un total de 1 a 10 aminoácidos

se sustituyeron, insertaron y/o eliminaron en una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38. En algunos aspectos, las sustituciones, inserciones o eliminaciones se presentan en regiones fuera de las CDR (es decir, en las FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-KLK7 comprende la secuencia de VL en una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38, que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de dicha secuencia. Opcionalmente, el anticuerpo anti-KLK7 comprende la secuencia de VL en SEQ ID NO: 32 o 38, lo que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de esa secuencia. En un aspecto particular, la VL comprende una, dos o tres CDR seleccionadas de: (a) CDR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, (b) CDR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, y (c) CDR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.

[00110] En otro aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-KLK7, en donde el anticuerpo comprende una secuencia de VH como en cualquiera de los aspectos proporcionados anteriormente, y una secuencia de VL como en cualquiera de los aspectos proporcionados anteriormente. En un aspecto, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en SEQ ID NO:29 y SEQ ID NO:32, respectivamente, que incluye modificaciones posteriores a la traducción de dichas secuencias. En un aspecto, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en SEQ ID NO:30 y SEQ ID NO:38, respectivamente, que incluye modificaciones posteriores a la traducción de dichas secuencias.

[00111] En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un anticuerpo anti-KLK7 proporcionado en la presente. Por ejemplo, en algunos aspectos, se proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un anticuerpo anti-KLK7 que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO:29 y una secuencia de VL de SEQ ID NO:32.

[00112] En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que compite por la unión a KLK7 con un anticuerpo anti-KLK7 proporcionado en la presente.

[00113] En otro aspecto de la invención, un anticuerpo anti-KLK7 de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores es un anticuerpo monoclonal, que incluye un anticuerpo quimérico, humanizado o humano. En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK7 es un fragmento de anticuerpo, por ejemplo, un Fv, Fab, Fab', scFv, diacuerpo o fragmento F(ab')₂. En otro aspecto, el anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa, por ejemplo, un anticuerpo IgG1 intacto u otra clase de anticuerpo o isotipo definido en la presente.

[00114] En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-KLK7 de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores puede incorporar cualquiera de las características, solas o combinadas, como se describe en las Secciones 1-8 a continuación.

B. Anticuerpos anti-KLK5 de ejemplo

[00115] En un aspecto, la invención proporciona anticuerpos que se unen a KLK5. En un aspecto, se proporcionan anticuerpos aislados que se unen a KLK5. En un aspecto, la invención proporciona anticuerpos que se unen específicamente a KLK5. En algunos aspectos, un anticuerpo anti-KLK5 inhibe la actividad de proteasa KLK5. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK5 inhibe la escisión mediada por KLK5 humana del sustrato Boc-Val-Pro-Arg-AMC. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK5 inhibe la escisión mediada por KLK5 humana del sustrato Boc-Val-Pro-Arg-AMC con una IC₅₀ de menos de 5 nM, o menos de 3 nM, o menos de 2 nM, o menos de 1 nM. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK5 inhibe la escisión mediada por KLK5 humana del sustrato Boc-Val-Pro-Arg-AMC con una IC₅₀ de no más de 5 nM, o no más de 3 nM, o no más de 2 nM, o no más de 1 nM. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK5 se une a KLK5 con una K_D de menos de 60 pM, menos de 30 pM, menos de 20 pM, menos de 10 pM, o menos de 5 pM, según se midió mediante resonancia de plasmones superficiales. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK5 se une a KLK5 con una K_D de no más de 60 pM, no más de 30 pM, no más de 20 pM, no más de 10 pM o no más de 5 pM, según se mide mediante resonancia de plasmones superficiales.

[00116] En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK5, cuando se une a KLK5 humana, da como resultado un cambio conformacional de KLK5 humana, en donde el cambio conformacional resulta alostéricamente en la interrupción del sitio de unión al sustrato y/o el sitio activo de KLK5 humana.

[00117] En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK5 se une a un epítipo en KLK5 humana que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de Pro130, Ser131, Ala132, Gly133, Val162, Leu163, Ser164, Gln165, Lys166, Arg167, Glu169, Asp170, Ala171, Tyr172, Pro173, Arg174, Gln174A, Ile176, Asp177, Asp178, Gly184, Asp185, Lys186, Ala186A, Arg188, Asn223, Arg224, Pro225, y Lys233 de acuerdo con la numeración de proteasa estándar (P113, S114, A115, G116, V145, L146, S147, Q148, K149, R150, E152, D153, A154, Y155, P156,

R157, Q158, I159, D160, D161, G167, D168, K169, A170, R172, N204, R205, P206 y K214 mediante numeración secuencial de SEQ ID NO: 2). Ver, por ejemplo, la publicación PCT N.º WO 2019/178316 A1. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK5 se une a un epítipo en KLK5 humana que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en Pro130, Ser131, Ala132, Val162, Leu163, Ser164, Gln165, Lys166, Arg167, Glu169, Asp170, Ala171, Tyr172, Pro173, Arg174, Gln174A, Ile176, Asp177, Asp178, Arg224 y Lys233 de acuerdo con la numeración de proteasa estándar. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK5 se une a un epítipo en KLK5 humana que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de Pro30, Ser131, Ala132, Gly133, Val162, Leu163, Ser164, Gln165, Lys166, Arg167, Glu169, Asp170, Ala171, Tyr172, Pro173, Arg174, Gln174A, Ile176, Asp177 y Lys233 de acuerdo con la numeración de proteasa estándar. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK5 se une a un epítipo en KLK5 humana que comprende uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de Ser131, Ala132, Gly133, Leu163, Ser164, Gln165, Lys166, Arg167, Glu169, Asp170, Ala171, Pro173, Arg174, Gly184, Asp185, Lys186, Ala186A, Arg188, Asn223, Arg224 y Pro225 de acuerdo con la numeración de proteasa estándar.

[00118] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-KLK5 no se une a KLK7. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-KLK5 no se une a KLK1, KLK4, KLK7, KLK11 o KLK14. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-KLK5 se une a KLK5 humana y KLK5 de *Macaca fascicularis*.

Anticuerpo hu.10C5-H28L5 y variantes

[00119] En un aspecto, la invención proporciona un anticuerpo anti-KLK5 que comprende al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, o las seis CDR seleccionadas de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39 y 107; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40 y 41; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43 y 44; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46-49.

[00120] En un aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias de VH CDR seleccionadas de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39; (b) CDR-H2

que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42. En otro aspecto, el anticuerpo comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42.

[00121] En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias de VL CDR seleccionadas de (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47. En un aspecto, el anticuerpo comprende (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47.

[00122] En un aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias de VH CDR seleccionadas de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39 y 107; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40 y 41; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42. En otro aspecto, el anticuerpo comprende CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39, CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, y CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42.

[00123] En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias de VL CDR seleccionadas de (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43 y 44; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46-49. En un aspecto, el anticuerpo comprende (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47.

[00124] En otro aspecto, un anticuerpo de la invención comprende (a) un dominio VH que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias de VH CDR seleccionadas de (i) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de

SEQ ID NO: 39 y 107, (ii) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40 y 41, y (iii) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42; y (b) un dominio VL que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias de VL CDR seleccionadas de (i) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43 y 44, (ii) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46-49.

[00125] En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47.

[00126] En cualquiera de los aspectos proporcionados en la presente, un anticuerpo anti-KLK5 es humanizado. En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 también comprende un marco aceptor humano, por ejemplo, un marco de inmunoglobulina humano o un marco de consenso humano.

[00127] En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una o más secuencias de marco de la cadena pesada seleccionadas de (a) una región de marco de la cadena pesada 1 (HC-FR1) de SEQ ID NO:161, (b) una región de marco de la cadena pesada 2 (HC-FR2) de SEQ ID NO: 162-163, (c) una región de marco de la cadena pesada 3 (HC-FR3) de SEQ ID NO:164, y (d) una región de marco de la cadena pesada 4 (HC-FR4) de SEQ ID NO:165.

[00128] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende a HC-FR1 de SEQ ID NO:161. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR2 de SEQ ID NO: 162-163. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR3 de SEQ ID NO: 164. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR4 de SEQ ID NO: 165.

[00129] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR1 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:161. En un aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR1 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 161. En otro aspecto, el dominio VH

comprende una HC-FR1 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 161.

[00130] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR2 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO:162-163. En un aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR2 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 162-163. En otro aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR2 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 162-163.

[00131] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR3 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO: 164. En un aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR3 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 164. En otro aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR3 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 164.

[00132] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR4 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO: 165. En un aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR4 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 165. En otro aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR4 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 165.

[00133] En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una o más secuencias de marco de la cadena liviana seleccionadas de (a) una región de marco de la cadena liviana 1 (LC-FR1) de SEQ ID NO: 166, (b) una región de marco de la cadena liviana 2 (LC-FR2) de SEQ ID NO: 167-168, (c) una región de marco de la cadena liviana 3 (LC-FR3) de SEQ ID NO: 169, y (d) una región de marco de la cadena liviana 4 (LC-FR4) de SEQ ID NO: 170.

[00134] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR1 de SEQ ID NO: 166. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR2 de SEQ ID NO: 167-168. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR3 de SEQ ID NO: 169. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR4 de SEQ ID NO: 170.

[00135] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR1 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO:166. En un aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR1 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 166. En otro aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR1 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 166.

[00136] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR2 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO:167-168. En un aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR2 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 167-168. En otro aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR2 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 167-168.

[00137] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR3 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO: 169. En un aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR3 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 169. En otro aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR3 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 169.

[00138] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR4 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO: 170. En un aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR4 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 170. En otro aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR4 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 170.

[00139] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende una o más de las secuencias de CDR de la VH de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 o 106. En otra forma de realización, un anticuerpo anti-KLK5 comprende una o más de las secuencias de CDR de la VL de SEQ ID NO: 51 o 54-57. En otra forma de realización, un anticuerpo anti-KLK5 comprende las secuencias de CDR de la VH de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 o 106 y las secuencias de CDR de la VL de SEQ ID NO: 51 o 54-57.

[00140] En otro aspecto, un anticuerpo anti- KLK5 comprende las secuencias de

aminoácidos de CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 del dominio VH de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 o 106 y las secuencias de aminoácidos de CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 del dominio VL de SEQ ID NO: 51 o 54-57.

[00141] En un aspecto, un anticuerpo anti- KLK5 comprende una o más de las secuencias de aminoácidos de CDR de cadena pesada del dominio VH de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 o 106 y un marco de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VH de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 o 106. En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de cadena pesada del dominio VH de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 o 106 y un marco de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VH de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 o 106. En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de cadena pesada del dominio VH de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 o 106 y un marco de al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VH de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 o 106. En otro aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de cadena pesada del dominio VH de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 o 106 y un marco de al menos de al menos 98 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VH de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 o 106.

[00142] En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende una o más de las secuencias de aminoácidos de CDR de cadena liviana del dominio VL de SEQ ID NO: 51 o 54-57 y un marco de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VL de SEQ ID NO: 51 o 54-57. En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de cadena liviana del dominio VL de SEQ ID NO: 51 o 54-57 y un marco de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VL de SEQ ID NO: 51 o 54-57. En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de cadena liviana del dominio VL de SEQ ID NO: 51 o 54-57 y un marco de al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VL de

SEQ ID NO: 51 o 54-57. En otro aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de cadena liviana del dominio VL de SEQ ID NO: 51 o 54-57 y un marco de al menos, en particular, 98 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VH de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106.

[00143] En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39 o 107; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40 o 41; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43 o 44; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46-49, y un dominio VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106, y un dominio VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 y 54-67. En un aspecto, el dominio VH tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106. En un aspecto, el dominio VL tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 y 54-67.

[00144] En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39 o 107; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40 o 41; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43 o 44; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46-49, y un dominio VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106, y un dominio VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 y 54-67; en donde el anticuerpo se une específicamente a KLK5. En un aspecto, el dominio VH tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos

de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106. En un aspecto, el dominio VL tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 y 54-67. En un aspecto, el anticuerpo se une a KLK5 que tiene una constante de disociación (K_D) que tiene una reducción de hasta 10 veces o un aumento de hasta 10 veces cuando se compara con la constante de disociación (K_D) de un anticuerpo que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 51 y 54-67.

[00145] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende una secuencia de dominio variable de la cadena pesada (VH) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106. En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende una secuencia de dominio variable de la cadena pesada (VH) que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106. En algunos aspectos, una secuencia de VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-KLK5 que comprende esa secuencia mantiene la capacidad de unirse a KLK5. En algunos aspectos, un total de 1 a 10 aminoácidos se sustituyeron, insertaron y/o eliminaron en SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106. En algunos aspectos, las sustituciones, inserciones o eliminaciones se presentan en regiones fuera de las CDR (es decir, en las FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-KLK5 comprende la secuencia de VH en SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106, lo que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de esa secuencia. En un aspecto particular, la VH comprende una, dos o tres CDR seleccionadas de: (a) CDR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39 o 107, (b) CDR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40 o 41, y (c) CDR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42. En otro aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-KLK5, en donde el anticuerpo comprende una secuencia de dominio variable de la cadena liviana (VL) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 y 54-67. En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende una secuencia de dominio variable de la cadena liviana (VL) que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 y 54-67. En algunos

aspectos, una secuencia de VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-KLK5 que comprende esa secuencia mantiene la capacidad de unirse a KLK5. En algunos aspectos, un total de 1 a 10 aminoácidos se sustituyeron, insertaron y/o eliminaron en SEQ ID NO: 51 y 54-67. En algunos aspectos, las sustituciones, inserciones o eliminaciones se presentan en regiones fuera de las CDR (es decir, en las FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-KLK5 comprende la secuencia de VL en SEQ ID NO: 51 y 54-67, que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de esa secuencia. En un aspecto particular, la VL comprende una, dos o tres CDR seleccionadas de: (a) CDR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43 o 44, (b) CDR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (c) CDR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46-49.

[00146] En otro aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-KLK5, en donde el anticuerpo comprende una secuencia de VH como en cualquiera de los aspectos proporcionados anteriormente, y una secuencia de VL como en cualquiera de los aspectos proporcionados anteriormente. En un aspecto, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106 y SEQ ID NO: 51 y 54-67, respectivamente, que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de dichas secuencias.

[00147] En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un anticuerpo anti-KLK5 proporcionado en la presente. Por ejemplo, en algunos aspectos, se proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un anticuerpo anti-KLK5 que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 51 y 54-67.

[00148] En otro aspecto de la invención, un anticuerpo anti-KLK5 de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores es un anticuerpo monoclonal, que incluye un anticuerpo quimérico, humanizado o humano. En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 es un fragmento de anticuerpo, por ejemplo, un Fv, Fab, Fab', scFv, diacuerpo o fragmento F(ab')₂. En otro aspecto, el anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa, por ejemplo, un anticuerpo IgG1 intacto u otra clase de anticuerpo o isotipo definido en la presente.

[00149] En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-KLK5 de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores puede incorporar cualquiera de las

características, solas o combinadas, como se describe en las Secciones 1-8 a continuación.

Anticuerpo hu.9H5-H14L4 y variantes

[00150] En un aspecto, la invención proporciona un anticuerpo anti-KLK5 que comprende al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, o las seis CDR seleccionadas de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 y 70; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 y 72; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:75-78.

[00151] En un aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias de VH CDR seleccionadas de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72. En otro aspecto, el anticuerpo comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72.

[00152] En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias de VL CDR seleccionadas de (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76. En un aspecto, el anticuerpo comprende (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76.

[00153] En otro aspecto, un anticuerpo de la invención comprende (a) un dominio VH que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias de VH CDR seleccionadas de (i) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (ii) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 y 70, y (iii) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 71 y 72; y (b) un dominio VL que comprende al menos una, al menos dos, o las tres secuencias de VL CDR seleccionadas de (i) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (ii) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75-78.

[00154] En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76.

[00155] En cualquiera de los aspectos proporcionados en la presente, un anticuerpo anti-KLK5 es humanizado. En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 también comprende un marco aceptor humano, por ejemplo, un marco de inmunoglobulina humano o un marco de consenso humano.

[00156] En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una o más secuencias de marco de la cadena pesada seleccionadas de (a) una región de marco de la cadena pesada 1 (HC-FR1) de SEQ ID NO: 171, (b) una región de marco de la cadena pesada 2 (HC-FR2) de SEQ ID NO: 172-173, (c) una región de marco de la cadena pesada 3 (HC-FR3) de SEQ ID NO: 174, y (d) una región de marco de la cadena pesada 4 (HC-FR4) de SEQ ID NO: 175.

[00157] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende a HC-FR1 de SEQ ID NO: 171. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR2 de SEQ ID NO: 172 o 173. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR3 de SEQ ID NO: 174. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR4 de SEQ ID NO: 175.

[00158] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR1 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 171. En un aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR1 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 171. En otro aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR1 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 171.

[00159] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR2 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO: 172 o 173. En un aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR2 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 172 o 173. En otro aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR2 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 172 o 173.

[00160] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR3 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO: 174. En un aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR3 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 174. En otro aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR3 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 174.

[00161] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VH que comprende una HC-FR4 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO: 175. En un aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR4 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 175. En otro aspecto, el dominio VH comprende una HC-FR4 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 175.

[00162] En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una o más secuencias de marco de la cadena liviana seleccionadas de (a) una región de marco de la cadena liviana 1 (LC-FR1) de SEQ ID NO: 176, (b) una región de marco de la cadena liviana 2 (LC-FR2) de SEQ ID NO: 177-178, (c) una región de marco de la cadena liviana 3 (LC-FR3) de SEQ ID NO: 179, y (d) una región de marco de la cadena liviana 4 (LC-FR4) de SEQ ID NO: 180.

[00163] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR1 de SEQ ID NO: 176. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR2 de SEQ ID NO: 177-178. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR3 de SEQ ID NO: 179. En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR4 de SEQ ID NO: 180.

[00164] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR1 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92

%, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO: 176. En un aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR1 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 176. En otro aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR1 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO:176.

[00165] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR2 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO: 177 o 178. En un aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR2 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 177 o 178. En otro aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR2 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 177 o 178.

[00166] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR3 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO: 179. En un aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR3 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 179. En otro aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR3 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 179.

[00167] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende un dominio VL que comprende una LC-FR4 de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con respecto a SEQ ID NO: 180. En un aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR1 de al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 180. En otro aspecto, el dominio VL comprende una LC-FR1 de al menos 98 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 180.

[00168] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende una o más de las secuencias de CDR de la VH de SEQ ID NO: 79 o 81-87. En otra forma de realización, un anticuerpo anti-KLK5 comprende una o más de las secuencias de CDR de la VL de SEQ ID NO: 80 o 88-94. En otra forma de realización, un anticuerpo anti-KLK5 comprende las secuencias de CDR de la VH de SEQ ID NO: 79 o 81-87 y las secuencias de CDR de la VL de SEQ ID NO: 80 o 88-94.

[00169] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende las secuencias de aminoácidos de CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 del dominio VH de SEQ ID NO: 79 o 81-87 y las secuencias de aminoácidos de CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 del dominio VL de

SEQ ID NO: 80 o 88-94.

[00170] En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende una o más de las secuencias de aminoácidos de CDR de cadena pesada del dominio VH de SEQ ID NO: 79 o 81-87 y un marco de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VH de SEQ ID NO: 79 o 81-87. En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de cadena pesada del dominio VH de SEQ ID NO: 79 o 81-87 y un marco de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VH de SEQ ID NO: 79 o 81-87. En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de cadena pesada del dominio VH de SEQ ID NO: 79 o 81-87 y un marco de al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VH de SEQ ID NO: 79 o 81-87. En otro aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de cadena pesada del dominio VH de SEQ ID NO: 79 o 81-87 y un marco de al menos de al menos 98 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VH de SEQ ID NO: 79 o 81-87.

[00171] En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende una o más de las secuencias de aminoácidos de CDR de cadena liviana del dominio VL de SEQ ID NO: 80 o 88-94 y un marco de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VL de SEQ ID NO: 80 o 88-94. En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de cadena liviana del dominio VL de SEQ ID NO: 80 o 88-94 y un marco de al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VL de SEQ ID NO: 80 o 88-94. En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de cadena liviana del dominio VL de SEQ ID NO: 80 o 88-94 y un marco de al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VL de SEQ ID NO: 80 o 88-94. En otro aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende las tres secuencias de aminoácidos de CDR de cadena liviana del dominio VL de SEQ ID NO: 80 o 88-94 y un marco de al menos, en particular, 98 % de identidad de secuencia con

respecto a la secuencia de aminoácidos de marco del dominio VH de SEQ ID NO: 80 o 88-94.

[00172] En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69-70; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71-72; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75-78, y un dominio VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 o 81-87, y un dominio VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 o 88-94. En un aspecto, el dominio VH tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 o 81-87. En un aspecto, el dominio VL tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 o 88-94.

[00173] En un aspecto, el anticuerpo anti-KLK5 comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69-70; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71-72; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75-78, y un dominio VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 o 81-87, y un dominio VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 o 88-94; en donde el anticuerpo se une específicamente a KLK5. En un aspecto, el dominio VH tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 o 81-87. En un aspecto, el dominio VL tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 o 88-94. En un aspecto, el anticuerpo se une a KLK5 que tiene una constante de disociación (K_D)

que tiene una reducción de hasta 10 veces o un aumento de hasta 10 veces cuando se compara con la constante de disociación (K_D) de un anticuerpo que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 79 o 81-87 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 80 o 88-94.

[00174] En otro aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende una secuencia de dominio variable de la cadena pesada (VH) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 o 81-87. En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende una secuencia de dominio variable de la cadena pesada (VH) que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 o 81-87. En algunos aspectos, una secuencia de VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-KLK5 que comprende esa secuencia mantiene la capacidad de unirse a KLK5. En algunos aspectos, un total de 1 a 10 aminoácidos se sustituyeron, insertaron y/o eliminaron en SEQ ID NO: 79 o 81-87. En algunos aspectos, las sustituciones, inserciones o eliminaciones se presentan en regiones fuera de las CDR (es decir, en las FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-KLK5 comprende la secuencia de VH en SEQ ID NO: 79 o 81-87, lo que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de esa secuencia. En un aspecto particular, la VH comprende una, dos o tres CDR seleccionadas de: (a) CDR-H1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69-70, y (c) CDR-H3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71-72. En otro aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-KLK5, en donde el anticuerpo comprende una secuencia de dominio variable de la cadena liviana (VL) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 o 88-94. En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 comprende una secuencia de dominio variable de la cadena liviana (VL) que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 o 88-94. En algunos aspectos, una secuencia de VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un

anticuerpo anti-KLK5 que comprende esa secuencia mantiene la capacidad de unirse a KLK5. En algunos aspectos, un total de 1 a 10 aminoácidos se sustituyeron, insertaron y/o eliminaron en SEQ ID NO: 80 o 88-94. En algunos aspectos, las sustituciones, inserciones o eliminaciones se presentan en regiones fuera de las CDR (es decir, en las FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-KLK5 comprende la secuencia de VL en SEQ ID NO: 80 o 88-94, lo que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de esa secuencia. En un aspecto particular, la VL comprende una, dos o tres CDR seleccionadas de: (a) CDR-L1, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (b) CDR-L2, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (c) CDR-L3, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75-78.

[00175] En otro aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-KLK5, en donde el anticuerpo comprende una secuencia de VH como en cualquiera de los aspectos proporcionados anteriormente, y una secuencia de VL como en cualquiera de los aspectos proporcionados anteriormente. En un aspecto, el anticuerpo comprende las secuencias de VH y VL en SEQ ID NO: 79 o 81-87 y SEQ ID NO: 80 o 88-94, respectivamente, que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de dichas secuencias.

[00176] En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un anticuerpo anti-KLK5 proporcionado en la presente. Por ejemplo, en algunos aspectos, se proporciona un anticuerpo que se une al mismo epítipo que un anticuerpo anti-KLK5 que comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 79 o 81-87 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 80 o 88-94.

[00177] En otro aspecto de la invención, un anticuerpo anti-KLK5 de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores es un anticuerpo monoclonal, que incluye un anticuerpo quimérico, humanizado o humano. En un aspecto, un anticuerpo anti-KLK5 es un fragmento de anticuerpo, por ejemplo, un Fv, Fab, Fab', scFv, diacuerpo o fragmento F(ab')₂. En otro aspecto, el anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa, por ejemplo, un anticuerpo IgG1 intacto u otra clase de anticuerpo o isotipo definido en la presente.

[00178] En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-KLK5 de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores puede incorporar cualquiera de las características, solas o combinadas, como se describe en las Secciones 1-8 a continuación.

C. Anticuerpos multiespecíficos anti-KLK5/KLK7 de ejemplo

[00179] En un aspecto, la invención proporciona anticuerpos multiespecíficos que se unen a KLK5 y KLK7. En algunas formas de realización, se proporcionan anticuerpos biespecíficos que se unen a KLK5 y KLK7. En algunas formas de realización, los anticuerpos multiespecíficos (tal como biespecíficos) inhiben la actividad de proteasa KLK5 y actividad de proteasa KLK7. En algunas formas de realización, los anticuerpos multiespecíficos (tal como biespecíficos) se unen a KLK5 con una K_D de menos de 60 pM, menos de 30 pM, menos de 20 pM, menos de 10 pM o menos de 5 pM, según se mide mediante resonancia de plasmones superficiales. En algunas formas de realización, los anticuerpos multiespecíficos (tal como biespecíficos) se unen a KLK7 con una K_D de menos de 20 pM, menos de 10 pM, o menos de 9 pM, o menos de 8 pM, o menos de 7 pM, o menos de 6 pM, o menos de 5 pM, o menos de 3 pM, o menos de 2 pM, o menos de 1 pM, según se mide mediante resonancia de plasmones superficiales. En algunas formas de realización, los anticuerpos multiespecíficos (tal como biespecíficos) se unen a KLK5 con una K_D de no más de 60 pM, no más de 30 pM, no más de 20 pM, no más de 10 pM o no más de 5 pM, según se mide mediante resonancia de plasmones superficiales. En algunas formas de realización, los anticuerpos multiespecíficos (tal como biespecíficos) se unen a KLK7 con una K_D de no más de 20 pM, no más de 10 pM, o no más de 9 pM, o no más de 8 pM, o no más de 7 pM, o no más de 6 pM, o no más de 5 pM, o no más de 3 pM, o no más de 2 pM, o no más de 1 pM, según se mide mediante resonancia de plasmones superficiales.

[00180] En algunas formas de realización, un anticuerpo multiespecífico anti-KLK5/KLK7 inhibe la actividad de proteasa KLK7 humana e inhibe la actividad de proteasa KLK5 humana. En algunas formas de realización, un anticuerpo multiespecífico anti-KLK5/KLK7 inhibe la escisión mediada por KLK7 humana de un sustrato que comprende la secuencia de aminoácidos RPKPVE-Nval-WRK (SEQ ID NO: 121), en donde Nval es norvalina, con una IC_{50} de menos de 5 nM, o menos de 3 nM, o menos de 2 nM, o menos de 1 nM. En algunas formas de realización, un anticuerpo multiespecífico anti-KLK5/KLK7 inhibe la escisión mediada por KLK5 humana del sustrato Boc-Val-Pro-Arg-AMC con una IC_{50} de menos de 5 nM, o menos de 3 nM, o menos de 2 nM, o menos de 1 nM. En algunas formas de realización, un anticuerpo multiespecífico anti-KLK5/KLK7 inhibe la escisión mediada por KLK7 humana de un sustrato que comprende la secuencia de aminoácidos RPKPVE-Nval-WRK (SEQ ID NO: 121), en donde Nval es norvalina, con una IC_{50} de no más de 5

nM, o no más de 3 nM, o no más de 2 nM, o no más de 1 nM. En algunas formas de realización, un anticuerpo multiespecífico anti-KLK5/KLK7 inhibe la escisión mediada por KLK5 humana del sustrato Boc-Val-Pro-Arg-AMC con una IC₅₀ de no más de 5 nM, o no más de 3 nM, o no más de 2 nM, o no más de 1 nM. En algunas formas de realización, la K_D del anticuerpo multiespecífico para KLK5 humana y la K_D del anticuerpo para KLK7 humana son hasta 3 veces, o hasta 2,5 veces, o hasta 2 veces o hasta 1,5 veces una con respecto a la otra.

[00181] En algunos aspectos, un anticuerpo multiespecífico que se une a KLK5 y a KLK7 comprende un primer dominio de unión que se une a KLK7 y un segundo dominio de unión que se une a KLK5.

[00182] En algunas formas de realización, un anticuerpo multiespecífico que se une a KLK5 y KLK7, cuando este se une a KLK5 humana, da como resultado un cambio conformacional de KLK5 humana, en donde el cambio conformacional resulta alostéricamente en la interrupción del sitio de unión al sustrato y/o el sitio activo de KLK5 humana. En algunas formas de realización, un anticuerpo multiespecífico que se une a KLK5 y KLK7, cuando este se une a KLK7 humana, da como resultado un cambio conformacional de KLK7 humana, en donde el cambio conformacional resulta alostéricamente en la interrupción del sitio de unión al sustrato y/o el sitio activo de KLK7 humana.

[00183] En algunas formas de realización, el primer dominio de unión comprende un dominio de unión de anticuerpo anti-KLK7 descrito en la presente. Por ejemplo, en algunas formas de realización de este tipo, el primer dominio de unión comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12. Como otro ejemplo no limitativo, en algunas formas de realización, el primer dominio de unión comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12, y un dominio VH que

tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30, y un dominio VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38. En algunas formas de realización, el primer dominio de unión comprende las secuencias de VH y VL en SEQ ID NO: 29 y SEQ ID NO: 32, respectivamente, que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de dichas secuencias. En algunas formas de realización, el primer dominio de unión comprende las secuencias de VH y VL en SEQ ID NO: 30 y SEQ ID NO: 38, respectivamente, que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de dichas secuencias.

[00184] En algunas formas de realización, el segundo dominio de unión comprende un dominio de unión de anticuerpo anti-KLK5 descrito en la presente. Por ejemplo, en algunas formas de realización de este tipo, el segundo dominio de unión comprende (a) CDR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 39 y 107, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 40 y 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 43 y 44, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 46-49. Como otro ejemplo no limitativo, en algunas formas de realización, el segundo dominio de unión comprende (a) CDR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 39 y 107, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 40 y 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 43 y 44, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 46-49, y un dominio VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106, y un dominio VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada

de SEQ ID NO: 51 y 54-67. En algunas formas de realización, el segundo dominio de unión comprende las secuencias de VH y VL en SEQ ID NO: 52 y SEQ ID NO: 55, respectivamente, que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de dichas secuencias. En algunas formas de realización, el segundo dominio de unión comprende las secuencias de VH y VL en SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO: 62, respectivamente, que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de dichas secuencias.

[00185] En algunas formas de realización, el segundo dominio de unión comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 69 y 70, y (c) CDR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 71 y 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 75-78. Como otro ejemplo no limitativo, en algunas formas de realización, el segundo dominio de unión comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 69 y 70, y (c) CDR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 71 y 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 75-78, y un dominio VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 79 y 81-87, y un dominio VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 80 y 88-94. En algunas formas de realización, el segundo dominio de unión comprende las secuencias de VH y VL en SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 88, respectivamente, que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de dichas secuencias. En algunas formas de realización, el segundo dominio de unión comprende las secuencias de VH y VL en SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 92, respectivamente, que incluye las modificaciones posteriores a la traducción de dichas secuencias.

[00186] En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo multiespecífico (tal como un anticuerpo biespecífico), en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 y el segundo dominio de unión se une a KLK5, en donde el primer dominio de unión es un dominio de unión de anticuerpo anti-KLK7 proporcionado en la presente y el segundo dominio de unión es un dominio de unión de anti-KLK5 proporcionado en la presente. En algunas formas de realización de este tipo, el primer dominio de unión *[omisión en texto fuente]*.

[00187] En algunas formas de realización, el primer dominio de unión comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12; y el segundo dominio de unión comprende (a) CDR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 39 y 107, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 40 y 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 43 y 44, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 46-49. En algunas formas de realización, el primer dominio de unión comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12; y el segundo dominio de unión comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 69 y 70, y (c) CDR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 71 y 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que

comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 75-78.

[00188] En algunas formas de realización, el primer dominio de unión comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12, y un dominio VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30, y un dominio VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38; y el segundo dominio de unión comprende (a) CDR-H1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 39 y 107, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 40 y 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 43 y 44, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 46-49, y un dominio VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 50, 52, 53, 105 y 106, y un dominio VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 51 y 54-67.

[00189] En algunas formas de realización, el primer dominio de unión comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12, y un dominio VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %

de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 13 y 15-30, y un dominio VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 14 y 31-38; y el segundo dominio de unión comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 69 y 70, y (c) CDR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 71 y 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 75-78, y un dominio VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 79 y 81-87, y un dominio VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 80 y 88-94.

[00190] En algunas formas de realización, un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7 comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12; y el segundo dominio de unión comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47.

[00191] En algunas formas de realización, un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7 comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12; y el segundo dominio de unión comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70, y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73, (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76.

[00192] En algunas formas de realización, un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7 comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde (i) el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de VH de SEQ ID NO: 29 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 32, o una secuencia de aminoácidos de VH de SEQ ID NO: 30 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 38; y (ii) el segundo dominio de unión comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 52 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 55; o una secuencia de VH de SEQ ID NO: 53 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 62. En algunas formas de realización, el primer dominio de unión comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 30 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 38, y el segundo dominio de unión comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 53 y una secuencia de VL de SEQ

ID NO: 62.

[00193] En algunas formas de realización, un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7 comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde (i) el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de VH de SEQ ID NO: 29 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 32, o una secuencia de aminoácidos de VH de SEQ ID NO: 30 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 38; y (ii) el segundo dominio de unión comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 83 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 88; o una secuencia de VH de SEQ ID NO: 87 y una secuencia de aminoácidos de VL de SEQ ID NO: 92. En algunas formas de realización, el primer dominio de unión comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 30 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 38, y el segundo dominio de unión comprende una secuencia de VH de SEQ ID NO: 87 y una secuencia de VL de SEQ ID NO: 92.

[00194] En algunas formas de realización, un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7 comprende un primer dominio de unión que se une a KLK7 y un segundo dominio de unión que se une a KLK5, en donde el primer dominio de unión comprende una primera región variable de la cadena pesada y una primera región variable de la cadena liviana, y el segundo dominio de unión comprende una segunda región variable de la cadena pesada y una segunda región variable de la cadena liviana. En algunas formas de realización de este tipo, la primera región variable de la cadena pesada comprende una sustitución Q39E (numeración de Kabat) y la primera región variable de la cadena liviana comprende una sustitución Q38K (numeración de Kabat); y la segunda región variable de la cadena pesada comprende una sustitución Q39K (numeración de Kabat) y la segunda región variable de la cadena liviana comprende una sustitución Q38E (numeración de Kabat). En algunas formas de realización, la primera región variable de la cadena pesada comprende una sustitución Q39K (numeración de Kabat) y la primera región variable de la cadena liviana comprende una sustitución Q38E (numeración de Kabat); y la segunda región variable de la cadena pesada comprende una sustitución Q39E (numeración de Kabat) y la segunda región variable de la cadena liviana comprende una sustitución Q38K (numeración de Kabat). En algunas formas de realización, las sustituciones Q39E/Q38K y Q39K/Q38E reducen los errores de apareamiento de las cadenas pesada y liviana del anticuerpo biespecífico.

[00195] En algunas formas de realización, el primer dominio de unión comprende un primer dominio variable de la cadena pesada ligado a una primera región constante de la cadena pesada y un primer dominio variable de la cadena liviana ligado a una primera región constante de la cadena liviana; y el segundo dominio de unión comprende un segundo dominio variable de la cadena pesada ligado a una segunda región constante de la cadena pesada y un segundo dominio variable de la cadena liviana ligado a una segunda región constante de la cadena liviana. En algunas formas de realización de este tipo, la primera región constante de la cadena pesada comprende una sustitución S183K (numeración EU) y la primera región constante de la cadena liviana comprende una sustitución V133E (numeración EU), y la segunda región constante de la cadena pesada comprende una sustitución S183E (numeración EU) y la segunda región constante de la cadena liviana comprende una sustitución V133K (numeración EU). En algunas formas de realización, la primera región constante de la cadena pesada comprende una sustitución S183E (numeración EU) y la primera región constante de la cadena liviana comprende una sustitución V133K (numeración EU), y la segunda región constante de la cadena pesada comprende una sustitución S183K (numeración EU) y la segunda región constante de la cadena liviana comprende una sustitución V133E (numeración EU). En algunas formas de realización, las sustituciones S183K/V133E y S183E/V133K reducen los errores de apareamiento de las cadenas pesada y liviana del anticuerpo biespecífico.

[00196] En algunas formas de realización, un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7 comprende sustituciones Q39E/Q38K y Q39K/Q38E en los dominios de unión y sustituciones S183K/V133E y S183E/V133K en las regiones constantes. Ver, por ejemplo, WO 2016/172485, que se incorpora en la presente por referencia en su totalidad a todos los fines. Un ejemplo esquemático no limitativo de un anticuerpo biespecífico se muestra en la Figura 15.

[00197] En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7, en donde el anticuerpo biespecífico comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 108 o 192, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 109, y el segundo dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 110 o 193 y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 111. En

algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7, en donde el anticuerpo biespecífico comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 112 o 194, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 113, y el segundo dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 114 o 195 y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 115.

[00198] En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7, en donde el anticuerpo biespecífico comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 108 o 192, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 109, y el segundo dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 114 o 195 y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 111. En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7, en donde el anticuerpo biespecífico comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 112 o 194, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 113, y el segundo dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 110 o 193 y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 115.

[00199] En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7, en donde el anticuerpo biespecífico comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 194, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 113, y el segundo dominio de unión que comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO:

195, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 115.

[00200] En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7, en donde el anticuerpo biespecífico comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 112, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 113, y el segundo dominio de unión que comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 195, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 115.

[00201] En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7, en donde el anticuerpo biespecífico comprende un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a KLK7 humana y el segundo dominio de unión se une a KLK5 humana, en donde el primer dominio de unión comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 194, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 113, y el segundo dominio de unión que comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 114, y una secuencia de aminoácidos de la cadena liviana de SEQ ID NO: 115.

[00202] En un aspecto adicional, un anticuerpo multiespecífico de acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores puede incorporar cualquiera de las características, solas o combinadas, como se describe en las Secciones 1-8 a continuación.

1. Afinidad de anticuerpos

[00203] En algunos aspectos, un anticuerpo proporcionado en la presente tiene una constante de disociación (K_D) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0,1 \text{ nM}$, $\leq 0,01 \text{ nM}$ o $\leq 0,001 \text{ nM}$ (por ejemplo, 10^{-8} M o menos, por ejemplo, de 10^{-8} M a 10^{-13} M , por ejemplo, de 10^{-9} M a 10^{-13} M).

[00204] En un aspecto, K_D se mide usando resonancia de plasmones superficiales. En un aspecto, K_D se mide usando un ensayo BIAcore® de resonancia de plasmones superficiales, tal como un ensayo BIAcore™ T200 o BIAcore™ 8K. Por ejemplo, un ensayo mediante BIAcore™ 8K (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) se lleva a cabo a 25 °C o 37 °C con un anticuerpo inmovilizado en un chip de proteína A a ~300 unidades de respuesta (RU). Diluciones en serie de 10 veces de antígeno (tal como

KLK7 humana o KLK5 humana) se inyectan en amortiguador HBS-P a 37 °C con una velocidad de flujo de 100 µl/min. De manera alternativa, diluciones en serie de 10 veces de antígeno se inyectan en amortiguador HBS-P a 25 °C con una velocidad de flujo de 30 µl/min. Las velocidades de asociación (k_a) y velocidades de disociación (k_d) se calculan usando un modelo de unión Langmuir 1:1 (por ejemplo, usando BIAcore Insight Evaluation Software versión 2.0). La constante de disociación de equilibrio (K_D) se calcula como la relación k_d/k_a .

[00205] En un método alternativo, la K_D se mide por medio de un ensayo de unión a antígeno radioetiquetado (RIA). En un aspecto, se realiza un RIA con la versión de Fab de un anticuerpo de interés y su antígeno. Por ejemplo, la afinidad de unión en solución de Fab para un antígeno se mide al equilibrar Fab con una concentración mínima de un antígeno etiquetado con (^{125}I) en presencia de una serie de titulaciones de antígeno no etiquetado, capturando luego el antígeno unido con una placa recubierta con anticuerpos anti-Fab (ver, por ejemplo, Chen *et al.*, *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999)). Para establecer las condiciones del ensayo, se recubren placas de múltiples cavidades MICROTITER® (Thermo Scientific) durante la noche con 5 µg/ml de un anticuerpo anti-Fab de captura (Cappel Labs) en 50 mM de carbonato de sodio (pH 9,6), y luego se bloquean con albúmina de suero bovino al 2 % (p/v) en PBS durante dos a cinco horas a temperatura ambiente (aproximadamente, 23 °C). En una placa no adsorbente (Nunc #269620) se mezclan 100 pM o 26 pM de antígeno [^{125}I] con diluciones en serie de un Fab de interés (por ejemplo, que coinciden con la evaluación del anticuerpo anti-VEGF, Fab-12, en Presta *et al.*, *Cancer Res.* 57:4593-4599 (1997)). Luego se incuba el Fab de interés durante la noche; sin embargo, la incubación puede continuar durante un período mayor (por ejemplo, alrededor de 65 horas) para garantizar que se alcance el equilibrio. Posteriormente, las mezclas se transfieren a la placa de captura para la incubación a temperatura ambiente (por ejemplo, durante una hora). Luego la solución se retira, y la placa se lava ocho veces con polisorbato 20 (TWEEN-20®) al 0,1 % en PBS. Cuando las placas se secan, se agregan 150 µl/cavidad de escintilador (MICROSCINT-20™; Packard), y las placas se cuentan en un contador gamma TOPCOUNT™ (Packard) durante 10 minutos. Las concentraciones de cada Fab que producen una unión máxima menor o igual a 20% se seleccionan para uso en ensayos de unión competitiva.

2. Fragmentos de anticuerpos

[00206] En algunos aspectos, un anticuerpo proporcionado en la presente es un

fragmento de anticuerpo.

[00207] En un aspecto, el fragmento de anticuerpo es un fragmento Fab, Fab', Fab'-SH, o F(ab')₂, en particular, un fragmento Fab. La digestión de papaína de anticuerpos intactos produce dos fragmentos de unión al antígeno idénticos, denominados fragmentos "Fab", que contienen, cada uno, los dominios variables de las cadenas pesada y liviana (VH y VL, respectivamente) y también el dominio constante de la cadena liviana (CL) y el primer dominio constante de la cadena pesada (CH1). La expresión "fragmento Fab", por ende, se refiere a un fragmento de anticuerpo que comprende una cadena liviana que comprende un dominio VL y un dominio CL, y un fragmento de cadena pesada que comprende un dominio VH y un dominio CH1. Los "fragmentos Fab" difieren de los fragmentos Fab por la adición de residuos en el terminal carboxi del dominio CH1 que incluyen una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo. Fab'-SH son fragmentos Fab' en donde los residuos de cisteína de los dominios constantes tienen un grupo libre de tiol. El tratamiento con pepsina produce un fragmento F(ab')₂ que tiene dos sitios de unión al antígeno (dos fragmentos Fab) y una parte de la región Fc. Para un análisis de fragmentos Fab y F(ab')₂ que comprenden residuos de epítipo de unión al receptor de rescate y que tienen una semivida aumentada *in vivo*, ver la patente estadounidense N.º 5.869.046.

[00208] En otro aspecto, el fragmento de anticuerpo es un diacuerpo, un triacuerpo o un tetracuerpo. Los "diacuerpos" son fragmentos de anticuerpos con dos sitios de unión a antígenos que pueden ser bivalentes o biespecíficos. Ver, por ejemplo, EP 404.097; WO 1993/01161; Hudson *et al.* Nat. Med. 9:129-134 (2003); y Hollinger *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993). Los triacuerpos y tetracuerpos se describen también en Hudson *et al.* Nat. Med. 9:129-134 (2003).

[00209] En otro aspecto, el fragmento de anticuerpo es un fragmento Fab monocatenario. Un "fragmento Fab monocatenario" o "scFab" es un polipéptido que consiste en un dominio variable de la cadena pesada (VH) de anticuerpo, un dominio constante de la cadena pesada 1 (CH1) de anticuerpo, un dominio variable de la cadena liviana (VL) de anticuerpo, un dominio constante de la cadena liviana (CL) de anticuerpo y un ligador, en donde dichos dominios de anticuerpo y dicho ligador tienen uno de los siguientes órdenes en la dirección terminal N a terminal C: a) VH-CH1-ligador-VL-CL, b) VL-CL-ligador-VH-CH1, c) VH-CL-ligador-VL-CH1 o d) VL-CH1-ligador-VH-CL. En particular, dicho ligador es un polipéptido de al menos 30 aminoácidos, preferentemente de 32 a 50 aminoácidos. Dichos fragmentos Fab monocatenarios se estabilizan a través del puente disulfuro natural entre el dominio CL

y el dominio CH1. Además, estos fragmentos Fab monocatenarios se pueden estabilizar de manera adicional mediante la generación de puentes disulfuro intercatenarios a través de la inserción de residuos de cisteína (por ejemplo, posición 44 en la cadena pesada variable y posición 100 en la cadena liviana variable de acuerdo con la numeración de Kabat).

[00210] En otro aspecto, el fragmento de anticuerpo es un fragmento variable monocatenario (scFv). Un “fragmento variable monocatenario” o “scFv” es una proteína de fusión de los dominios variables de las cadenas pesada (VH) y liviana (VL) de un anticuerpo, conectado mediante un ligador. En particular, el ligador es un polipéptido corto de 10 a 25 aminoácidos y, en general, es rico en glicina para flexibilidad, así como serina o treonina para solubilidad, y puede conectar el terminal N de la VH con el terminal C de la VL, o viceversa. Esta proteína retiene la especificidad del anticuerpo original, a pesar de la remoción de las regiones constantes y la introducción del ligador. Para obtener una reseña sobre fragmentos scFv, ver, por ejemplo, Plückthun, en *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, Nueva York), págs. 269-315, (1994); ver también WO 93/16185; y las patentes estadounidenses N.ºs 5.571.894 y 5.587.458.

[00211] En otro aspecto, el fragmento de anticuerpo es un anticuerpo de dominio único. Los “anticuerpos de dominio único” son fragmentos de anticuerpos que comprenden la totalidad o una porción del dominio variable de la cadena pesada o la totalidad o una porción del dominio variable de la cadena liviana de un anticuerpo. En algunos aspectos, un anticuerpo de dominio único es un anticuerpo de dominio único humano (Domantis, Inc., Waltham, MA; ver, por ejemplo, la patente estadounidense N.º 6.248.516 B1).

[00212] Los fragmentos de anticuerpos pueden elaborarse mediante diversas técnicas, que incluyen, entre otras, la digestión proteolítica de un anticuerpo intacto, así como la producción recombinante mediante células huésped recombinantes (por ejemplo, *E. coli*), como se describe en la presente.

3. Anticuerpos quiméricos y humanizados

[00213] En algunos aspectos, un anticuerpo proporcionado en la presente es un anticuerpo quimérico. Algunos anticuerpos quiméricos se describen, por ejemplo, en la patente estadounidense N.º 4.816.567; y Morrison *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)). En un ejemplo, un anticuerpo quimérico comprende una región variable no humana (por ejemplo, una región variable derivada de un ratón, una rata,

un hámster, un conejo o un primate no humano, tal como un mono) y una región constante humana. En un ejemplo adicional, un anticuerpo quimérico es un anticuerpo con “cambio de clase”, en el que la clase o subclase se cambió de forma que no es la del anticuerpo de origen. Los anticuerpos quiméricos incluyen fragmentos de unión al antígeno de este.

[00214] En algunos aspectos, un anticuerpo quimérico es un anticuerpo humanizado. Habitualmente un anticuerpo no humano es humanizado para reducir la inmunogenicidad en seres humanos, y al mismo tiempo conservar la especificidad y afinidad del anticuerpo no humano de origen. En general, un anticuerpo humanizado comprende uno o más dominios variables en los que las CDR (o porciones de estas), derivan de un anticuerpo no humano, y las FR (o porciones de estas) derivan de secuencias de anticuerpos humanos. Un anticuerpo humanizado también comprenderá opcionalmente al menos una porción de una región constante humana. En algunos aspectos, algunos residuos de FR en un anticuerpo humanizado se sustituyen con residuos correspondientes de un anticuerpo no humano (por ejemplo, el anticuerpo del que derivan los residuos de las CDR), por ejemplo, para restaurar o mejorar la especificidad o afinidad de un anticuerpo.

[00215] Los anticuerpos humanizados y los métodos para elaborarlos se reseñan, por ejemplo, en Almagro y Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008), y también se describen, por ejemplo, en Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-329 (1988); Queen *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); las patentes estadounidenses N.º 5.821.337, 7.527.791, 6.982.321 y 7.087.409; Kashmiri *et al.*, *Methods* 36:25-34 (2005) (que describe el injerto de la región determinante de la especificidad (SDR)); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (que describe el “resurgimiento”); Dall’Acqua *et al.*, *Methods* 36:43-60 (2005) (que describe la “transposición de FR”); y Osbourn *et al.*, *Methods* 36:61-68 (2005) y Klimka *et al.*, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (que describe el enfoque de la “selección guiada” en la transposición de FR).

[00216] Las regiones de marco humanas que pueden usarse para la humanización incluyen, entre otras: regiones de marco seleccionadas usando el método de “ajuste óptimo” (ver, por ejemplo, Sims *et al. J. Immunol.* 151:2296 (1993)); regiones de marco derivadas de la secuencia de consenso de anticuerpos humanos de un subgrupo particular de regiones variables de la cadena liviana o pesada (ver, por ejemplo, Carter *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); y Presta *et al. J. Immunol.*, 151:2623 (1993)); regiones de marco humanas maduras (mutadas de

manera somática) o regiones de marco de línea germinal humana (ver, por ejemplo, Almagro y Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); y regiones de marco derivadas del cribado de colecciones de FR (ver, por ejemplo, Baca *et al.*, *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) y Rosok *et al.*, *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)).

4. Anticuerpos humanos

[00217] En algunos aspectos, un anticuerpo proporcionado en la presente es un anticuerpo humano. Los anticuerpos humanos se pueden producir mediante diversas técnicas conocidas en el estado de la técnica. Los anticuerpos humanos se describen, por lo general, en van Dijk y van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) y Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008).

[00218] Los anticuerpos humanos pueden prepararse mediante la administración de un inmunógeno a un animal transgénico que se haya modificado para producir anticuerpos humanos intactos o anticuerpos intactos con regiones variables humanas en respuesta a una exposición a antígenos. Tales animales contienen normalmente la totalidad o una porción de los locus de inmunoglobulina humana, los cuales reemplazan los locus de inmunoglobulina endógena o están presentes de forma extracromosómica o integrados aleatoriamente a los cromosomas del animal. En tales ratones transgénicos, los locus de inmunoglobulina endógena por lo general se inactivaron. Para reseñas de métodos para obtener anticuerpos humanos a partir de animales transgénicos, ver Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005). Ver también, por ejemplo, las patentes estadounidenses N.º 6.075.181 y 6.150.584 que describen la tecnología XENOMOUSE™; la patente estadounidense N.º 5.770.429 que describe la tecnología HUMAB®; la patente estadounidense N.º 7.041.870 que describe la tecnología K-M MOUSE® y la publicación de solicitud de patente estadounidense N.º US 2007/0061900 que describe la tecnología VELOCIMOUSE®. Las regiones variables humanas de anticuerpos intactos generados por tales animales pueden modificarse de forma adicional, por ejemplo, al combinarse con una región constante humana diferente.

[00219] Los anticuerpos humanos también se pueden elaborar mediante métodos basados en hibridoma. Se describieron las líneas celulares de mieloma humano y de heteromieloma humano-ratón para la producción de anticuerpos monoclonales humanos. (Ver, por ejemplo, Kozbor *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur *et al.*, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, páginas

51-63 (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1987); y Boerner et al., *J. Immunol.*, 147: 86 (1991).) Los anticuerpos humanos generados a través de la tecnología de hibridoma de linfocitos B humanos también se describen en Li *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006). Métodos adicionales incluyen los descritos, por ejemplo, en la patente estadounidense N.º 7.189.826 (que describe la producción de anticuerpos IgM humanos monoclonales a partir de líneas celulares de hibridoma) y Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006) (que describe hibridomas humano-humano). La tecnología de hibridoma humano (es decir, la tecnología Trioma) se describe también en Vollmers y Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) y Vollmers y Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005).

[00220] También se pueden generar anticuerpos humanos mediante el aislamiento de secuencias de dominio variable seleccionadas a partir de colecciones de expresión de fagos derivadas de seres humanos. Esas secuencias de dominio variable pueden combinarse luego con un dominio constante humano deseado. A continuación se describen las técnicas para seleccionar anticuerpos humanos de colecciones de anticuerpos.

5. Anticuerpos derivados de colecciones

[00221] En algunos aspectos, un anticuerpo proporcionado en la presente se deriva de una colección. Es posible aislar los anticuerpos de la invención mediante el cribado de colecciones de combinaciones en busca de anticuerpos con la actividad o las actividades deseadas. Se analizan métodos para el cribado de colecciones de combinaciones, por ejemplo, Lerner *et al.* en *Nature Reviews* 16:498-508 (2016). Por ejemplo, en el estado de la técnica se conoce una variedad de métodos para generar colecciones de expresión de fagos y cribar tales colecciones en busca de anticuerpos que posean las características de unión deseadas. Tales métodos se analizan, por ejemplo, en Frenzel *et al.* en *mAbs* 8:1177-1194 (2016); Bazan *et al.* en *Human Vaccines and Immunotherapeutics* 8:1817-1828 (2012) y Zhao *et al.* en *Critical Reviews in Biotechnology* 36:276-289 (2016), así como en Hoogenboom et al. en *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) y en Marks y Bradbury en *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003).

[00222] En ciertos métodos de expresión en fago, se clonan por separado repertorios de genes VH y VL mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y

se recombinan aleatoriamente en colecciones de fagos, que pueden luego cribarse en búsqueda de fago de fijación al antígeno como se describe en Winter *et al.* en *Annual Review of Immunology* 12: 433-455 (1994). El fago presenta por lo general fragmentos de anticuerpos, ya sea como fragmentos Fv monocatenarios (scFv) o como fragmentos Fab. Las colecciones de fuentes inmunizadas proporcionan anticuerpos de alta afinidad al inmunógeno sin que sea necesaria la construcción de hibridomas. De manera alternativa, el repertorio indiferenciado puede clonarse (por ejemplo, a partir de un ser humano) para proporcionar una única fuente de anticuerpos para una amplia variedad de no autoantígenos y también autoantígenos sin inmunización, como se describe en Griffiths *et al.*, en *EMBO Journal* 12: 725-734 (1993). Además, es posible producir colecciones indiferenciadas en forma sintética mediante la clonación de segmentos de gen V sin reordenamiento de células madre y la utilización de cebadores de PCR que contienen secuencias aleatorias para codificar las regiones CDR3 muy variables y lograr el reordenamiento *in vitro*, como describen Hoogenboom y Winter en *Journal of Molecular Biology* 227: 381-388 (1992). Las publicaciones de patentes que describen colecciones de fagos de anticuerpos humanos incluyen, por ejemplo: patentes estadounidenses N.ºs 5.750.373; 7.985.840; 7.785.903 y 8.679.490 así como publicaciones de patente estadounidense N.ºs 2005/0079574, 2007/0117126, 2007/0237764 y 2007/0292936.

[00223] Otros ejemplos de métodos conocidos en la técnica para el cribado de colecciones combinatorias en búsqueda de anticuerpos con una actividad o actividades deseadas incluyen la expresión de ribosomas y mRNA, así como métodos para la expresión y selección de anticuerpos en bacterias, células de mamífero, células de insecto o células de levadura. Se analizan métodos para la expresión superficial de levadura, por ejemplo, Scholler *et al.* en *Methods in Molecular Biology* 503:135-56 (2012) y Cherf *et al.* en *Methods in Molecular biology* 1319:155-175 (2015) así como Zhao *et al.* en *Methods in Molecular Biology* 889:73-84 (2012). Se describen métodos para la expresión de ribosomas, por ejemplo, He *et al.* en *Nucleic Acids Research* 25:5132-5134 (1997) y Hanes *et al.* en *PNAS* 94:4937-4942 (1997).

[00224] Los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos aislados a partir de colecciones de anticuerpos humanos se consideran anticuerpos humanos o fragmentos de anticuerpos humanos en la presente.

6. Anticuerpos multiespecíficos

[00225] En algunos aspectos, un anticuerpo proporcionado en la presente es un

anticuerpo multiespecífico, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico. Los “anticuerpos multiespecíficos” son anticuerpos monoclonales que tienen especificidades de unión para al menos dos sitios diferentes, es decir, diferentes epítomos en diferentes antígenos o diferentes epítomos en el mismo antígeno. En determinados aspectos, el anticuerpo multiespecífico tiene tres o más especificidades de unión. En algunos aspectos, una de las especificidades de unión es para KLK7 y la otra especificidad es para cualquier otro antígeno. En algunos aspectos, una de las especificidades de unión es para KLK7 y la otra especificidad es para KLK5. En algunos aspectos, los anticuerpos biespecíficos se pueden unir a dos (o más) epítomos diferentes de un antígeno. Los anticuerpos multiespecíficos se pueden preparar como anticuerpos de longitud completa o fragmentos de anticuerpos.

[00226] Las técnicas para elaborar anticuerpos multiespecíficos incluyen, entre otras, coexpresión recombinante de dos pares de cadena pesada-cadena liviana de inmunoglobulina con diferentes especificidades (ver Milstein y Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)) y modificación por ingeniería genética “botón en ojal” (ver, por ejemplo, patente estadounidense N.º 5.731.168, y Atwell *et al.*, *J. Mol. Biol.* 270:26 (1997)). Los ejemplos no limitativos de sustituciones de botón en ojal incluyen T366W (botón) y T366S/ L368A/Y407V (ojal). En algunas formas de realización, las sustituciones de botón en ojal se encuentran en dominios constantes de IgG1.

[00227] Los anticuerpos multiespecíficos también se pueden elaborar mediante modificación por ingeniería genética de efectos de dirección electrostática para elaborar moléculas heterodiméricas de Fc de anticuerpo. Ver, por ejemplo, WO 2009/089004; Dillon *et al.*, *Mabs* 9(2): 213-230 (2017). Como un ejemplo no limitativo, en un anticuerpo biespecífico que comprende dos regiones variables de la cadena pesada y dos regiones variables de la cadena liviana, una primera región variable de la cadena pesada puede comprender una sustitución Q39E (numeración de Kabat) y una primera región variable de la cadena liviana puede comprender una sustitución Q38K (numeración de Kabat); y una segunda región variable de la cadena pesada puede comprender una sustitución Q39K (numeración de Kabat) y una segunda región variable de la cadena liviana puede comprender una sustitución Q38E (numeración de Kabat). En algunas formas de realización, las sustituciones Q39E/Q38K y Q39K/Q38E reducen los errores de apareamiento de las cadenas pesada y liviana del anticuerpo biespecífico. De manera similar, una primera región constante de la cadena pesada puede comprender una sustitución S183K (numeración EU) y una primera región constante de la cadena liviana puede comprender una

sustitución V133E (numeración EU), y una segunda región constante de la cadena pesada puede comprender una sustitución S183E (numeración EU) y una segunda región constante de la cadena liviana puede comprender una sustitución V133K (numeración EU). En algunas formas de realización, las sustituciones S183K/V133E y S183E/V133K reducen los errores de apareamiento de las cadenas pesada y liviana del anticuerpo biespecífico.

[00228] En algunas formas de realización, un anticuerpo biespecífico comprende sustituciones Q39E/Q38K y Q39K/Q38E en los dominios de unión y sustituciones S183K/V133E y S183E/V133K en las regiones constantes. En algunas formas de realización, un anticuerpo biespecífico comprende sustituciones de botón en ojal y sustituciones electroestáticas. Ver, por ejemplo, WO 2016/172485, que se incorpora en la presente por referencia en su totalidad a todos los fines. Un ejemplo esquemático no limitativo de un anticuerpo biespecífico se muestra en la Figura 15.

[00229] En consecuencia, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo multiespecífico, que comprende a) un primer par de cadena pesada/cadena liviana unido a un primer antígeno que comprende un primer polipéptido de cadena pesada (H1) y un primer polipéptido de cadena liviana (L1), y b) un segundo par de cadena pesada/cadena liviana unido a un segundo antígeno que comprende un segundo polipéptido de cadena pesada (H2) y un segundo polipéptido de cadena liviana (L2), en donde cada H1 y H2 comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) y un dominio constante de la cadena pesada (CH1), y cada L1 y L2 comprende un dominio variable de la cadena liviana (VL) y un dominio constante de la cadena liviana (CL); en donde el dominio CH1 de H1 comprende una sustitución de aminoácido en S183 (numeración EU) y el dominio CL de L1 comprende una sustitución de aminoácido en V133 (numeración EU); y en donde el dominio VH de H1 comprende una sustitución de aminoácido en la posición Q39 y el dominio VL de L1 comprende una sustitución de aminoácido en la posición Q38 y/o el dominio VH de H2 comprende una sustitución de aminoácido en la posición Q39 y el dominio VL de L2 comprende una sustitución de aminoácido en la posición Q38 (todos según la numeración de Kabat). En algunas formas de realización, el dominio VH de H1 comprende una sustitución de aminoácido en Q39 (numeración de Kabat) y el dominio VL de L1 comprende una sustitución de aminoácido en Q38 (numeración de Kabat). En algunas formas de realización, el dominio CH1 de H2 comprende una sustitución de aminoácido en S183 (numeración EU) y el dominio CL de L2 comprende una sustitución de aminoácido en V133 (numeración EU). En algunas formas de

realización, el dominio VH de H2 también comprende una sustitución de aminoácido en la posición Q39 y el dominio VL de L2 también comprende una sustitución de aminoácido en la posición Q38 (numeración de Kabat). En algunas formas de realización, el dominio CH1 de H1 comprende una mutación S183K y CL de L1 comprende una mutación V133E, y CH1 de H2 comprende una mutación S183E y el dominio CL de L2 comprende la mutación V133K. En algunas formas de realización, el dominio VH de H1 comprende una mutación Q39E, el dominio VL de L1 comprende una mutación Q38K, el dominio VH de H2 comprende una mutación Q39K y el dominio VL de L2 comprende una mutación Q38E (todos según numeración de Kabat).

[00230] Los anticuerpos multiespecíficos también se pueden elaborar mediante reticulación de dos o más anticuerpos o fragmentos (ver, por ejemplo, la patente estadounidense N.º 4.676.980, y Brennan *et al.*, *Science*, 229: 81 (1985)); o mediante el uso de cremalleras de leucina para producir anticuerpos biespecíficos (ver, por ejemplo, Kostelny *et al.*, *J. Immunol.*, 148(5): 1547-1553 (1992) y WO 2011/034605); mediante el uso de tecnología común de cadena liviana para evadir el problema de error de apareamiento de la cadena liviana (ver, por ejemplo, WO 98/50431); mediante el uso de tecnología de “diacuerpo” para elaborar fragmentos de anticuerpos biespecíficos (ver, por ejemplo, Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)); y mediante el uso de dímeros de Fv monocatenario (sFv) (ver, por ejemplo, Gruber *et al.*, *J. Immunol.*, 152:5368 (1994)); y preparación de anticuerpos triespecíficos como se describe, por ejemplo, en Tutt *et al.* *J. Immunol.* 147: 60 (1991).

[00231] Los anticuerpos modificados por ingeniería genética con tres o más sitios de unión al antígeno, que incluyen, por ejemplo, “anticuerpos Octopus”, o DVD-Ig también se incluyen en la presente (ver, por ejemplo, WO 2001/77342 y WO 2008/024715). Otros ejemplos de anticuerpos multiespecíficos con tres o más sitios de unión al antígeno se pueden encontrar en WO 2010/115589, WO 2010/112193, WO 2010/136172, WO 2010/145792 y WO 2013/026831. El anticuerpo biespecífico o fragmento de unión al antígeno de este también incluye un “Fab de acción dual” o “DAF” que comprende un sitio de unión al antígeno que se une a KLK7 así como otro antígeno diferente, tal como KLK5 (ver, por ejemplo, US 2008/0069820 y WO 2015/095539).

[00232] Los anticuerpos multiespecíficos también se pueden proporcionar en forma asimétrica con un entrecruzamiento de dominios en uno o más brazos de unión de la misma especificidad al antígeno, es decir, al intercambiar los dominios VH/VL (ver, por ejemplo, WO 2009/080252 y WO 2015/150447), los dominios CH1/CL (ver,

por ejemplo, WO 2009/080253) o los brazos de Fab completos (ver, por ejemplo, WO 2009/080251, WO 2016/016299, ver también Schaefer et al, PNAS, 108 (2011) 1187-1191 y Klein et al., MAbs 8 (2016) 1010-20). En un aspecto, el anticuerpo multiespecífico comprende un fragmento Fab entrecruzado. La expresión “fragmento Fab entrecruzado” o “fragmento xFab” o “fragmento Fab con entrecruzamiento” se refiere a un fragmento Fab, en donde se intercambian las regiones variables o las regiones constantes de las cadenas pesada y liviana. Un fragmento Fab entrecruzado comprende una cadena de polipéptidos compuesta por la región variable de la cadena liviana (VL) y la región constante de la cadena pesada 1 (CH1), y una cadena de polipéptidos compuesta por la región variable de la cadena pesada (VH) y la región constante de la cadena liviana (CL). Los brazos de Fab asimétricos también se pueden modificar por ingeniería genética al introducir mutaciones de aminoácidos cargados o no cargados en interfaces de dominios para dirigir el correcto apareamiento de Fab. Ver, por ejemplo, WO 2016/172485.

[00233] Otros diversos formatos moleculares para anticuerpos multiespecíficos se conocen en el estado de la técnica y se incluyen en la presente (ver, por ejemplo, Spiess *et al.*, Mol. Immunol. 67 (2015) 95-106).

[00234] Los ejemplos de formatos de anticuerpo biespecífico que pueden ser útiles para este fin incluyen, entre otros, las denominadas moléculas de “BiTE” (acoplador de linfocitos T biespecífico), en donde dos moléculas de scFv se fusionan mediante un ligador flexible (ver, por ejemplo, WO 2004/106381, WO 2005/061547, WO 2007/042261 y WO 2008/119567, Nagorsen y Bäuerle, Exp Cell Res 317, 1255-1260 (2011)); diacuerpos (Holliger *et al.*, Prot. Eng. 9, 299-305 (1996)) y derivados de estos, tales como diacuerpos tándem (“TandAb”; Kipriyanov *et al.*, J Mol Biol 293, 41-56 (1999)); moléculas de “DART” (redireccionamiento de afinidad dual), que se basan en el formato de diacuerpo pero incluyen un puente disulfuro del terminal C para estabilización adicional (Johnson *et al.*, J Mol Biol 399, 436-449 (2010)), y las denominadas triomab, que son moléculas de IgG de ratón/rata híbridas enteras (reseñadas en Seimetz *et al.*, Cancer Treat. Rev 36, 458-467 (2010)). Los formatos de anticuerpo biespecífico de linfocitos T particulares incluidos en la presente se describen en WO 2013/026833, WO 2013/026839, WO 2016/020309; Bacac *et al.*, Oncoimmunology 5(8) (2016) e1203498.

7. Variantes de anticuerpos

[00235] En algunos aspectos, se incluyen variantes de las secuencias de

aminoácidos de los anticuerpos proporcionados en la presente. Por ejemplo, puede ser conveniente alterar la afinidad de unión y/u otras propiedades biológicas del anticuerpo. Las variantes de secuencias de aminoácidos de un anticuerpo se pueden preparar mediante la introducción de modificaciones apropiadas a la secuencia de nucleótidos que codifica el anticuerpo o mediante síntesis de péptidos. Esas modificaciones incluyen, por ejemplo, eliminaciones, inserciones y/o sustituciones de residuos dentro de las secuencias de aminoácidos del anticuerpo. Se puede realizar cualquier combinación de eliminaciones, inserciones y sustituciones para lograr el constructo final, siempre y cuando el constructo final tenga las características deseadas, por ejemplo, la unión a antígenos.

a) Variantes de sustitución, inserción y eliminación

[00236] En determinados aspectos, se proporcionan variantes de anticuerpos que presentan una o más sustituciones de aminoácidos. Los sitios de interés para la mutagénesis por sustitución incluyen las CDR y las FR. Las sustituciones conservadoras se muestran en la Tabla 1 con el título “Sustituciones preferidas”. Se proporcionan cambios más sustanciales en la Tabla 1 con el título “Sustituciones de ejemplo” y como se describe más adelante con respecto a las clases de cadenas laterales de aminoácidos. Se pueden introducir sustituciones de aminoácidos en un anticuerpo de interés y los productos se pueden cribar para determinar una actividad deseada, por ejemplo, unión al antígeno conservada/mejorada, inmunogenicidad disminuida o ADCC o CDC mejoradas.

TABLA 1

Residuo original	Sustituciones de ejemplo	Sustituciones preferidas
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala

Residuo original	Sustituciones de ejemplo	Sustituciones preferidas
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Norleucina	Leu
Leu (L)	Norleucina; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Norleucina	Leu

[00237] Los aminoácidos se pueden agrupar de acuerdo con las propiedades comunes de la cadena lateral:

- (1) hidrófobos: Norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) hidrófilos neutros: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) ácidos: Asp, Glu;
- (4) básicos: His, Lys, Arg;
- (5) residuos que influyen en la orientación de la cadena: Gly, Pro;
- (6) aromáticos: Trp, Tyr, Phe.

[00238] Las sustituciones no conservadoras implican el intercambio de un miembro de una de estas clases por un miembro de otra clase.

[00239] Un tipo de variante de sustitución implica sustituir uno o más residuos de regiones hipervariables de un anticuerpo de origen (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado). En general, las variantes resultantes seleccionadas para estudio adicional tendrán modificaciones (por ejemplo, mejoras) en algunas propiedades biológicas (por ejemplo, mayor afinidad, inmunogenicidad reducida) con respecto al anticuerpo de origen y/o conservarán sustancialmente algunas propiedades biológicas del anticuerpo de origen. Una variante de sustitución de ejemplo es un anticuerpo madurado por afinidad, que se puede generar de manera conveniente, por ejemplo, mediante técnicas de maduración por afinidad a base de

expresión de fagos, tales como las descritas en la presente. En resumen, uno o más residuos de CDR se someten a mutación y las variantes de anticuerpos se expresan en fagos y se criban para determinar una actividad biológica particular (por ejemplo, afinidad de unión).

[00240] Se pueden realizar alteraciones (por ejemplo, sustituciones) en las CDR, por ejemplo, para mejorar la afinidad de los anticuerpos. Tales alteraciones se pueden llevar a cabo en los “puntos calientes” de las CDR, es decir, los residuos codificados por codones que se someten a mutación a alta frecuencia durante el proceso de maduración somática (ver, por ejemplo, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)) y/o residuos que entran en contacto con el antígeno, en donde la variante de VH o VL resultante se evalúa para determinar la afinidad de unión. Se describió la maduración por afinidad mediante la construcción y reelección de colecciones secundarias, por ejemplo, en Hoogenboom *et al.* en *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien *et al.*, ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)). En algunos aspectos de maduración por afinidad, la diversidad se introduce en los genes variables elegidos para maduración mediante cualquiera de una variedad de métodos (por ejemplo, PCR propensa a errores, transposición de cadenas o mutagénesis dirigida a oligonucleótidos). Luego se crea una colección secundaria. Luego la colección se criba para identificar cualquier variante de anticuerpo con la afinidad deseada. Otro método para introducir diversidad implica enfoques dirigidos a CDR, en los que se aleatorizan varios residuos de CDR (por ejemplo, 4-6 residuos a la vez). Los residuos de CDR que participan en la unión al antígeno se pueden identificar específicamente, por ejemplo, mediante modelado o mutagénesis de barrido de alanina. En particular, CDR-H3 y CDR-L3 se eligen con frecuencia como diana.

[00241] En determinados aspectos, las sustituciones, inserciones o eliminaciones pueden ocurrir en una o más CDR siempre que tales alteraciones no reduzcan sustancialmente la capacidad de unión al antígeno del anticuerpo. Por ejemplo, las alteraciones conservadoras (por ejemplo, las sustituciones conservadoras proporcionadas en la presente) que no reducen sustancialmente la afinidad de unión se pueden llevar a cabo en las CDR. Dichas alteraciones pueden, por ejemplo, producirse fuera de los residuos que entran en contacto con antígenos en las CDR. En determinadas secuencias de VH y VL variantes proporcionadas en la presente, cada CDR se mantiene sin alteraciones o contiene no más de una, dos o tres sustituciones de aminoácidos.

[00242] Un método útil para la identificación de residuos o regiones de un

anticuerpo que puede ser diana de la mutagénesis se denomina "mutagénesis por barrido de alanina", como lo describen Cunningham y Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085. En este método, un residuo o grupo de residuos diana (por ejemplo, residuos con carga, tales como arg, asp, his, lys y glu) se identifican y se reemplazan por un aminoácido con carga neutral o negativa (por ejemplo, alanina o polialanina) para determinar si la interacción del anticuerpo con el antígeno se ve afectada. Otras sustituciones se pueden introducir en las ubicaciones de aminoácidos que demuestran sensibilidad funcional a las sustituciones iniciales. De manera alternativa, o de manera adicional, se puede usar una estructura de cristal de un complejo antígeno-anticuerpo, a fin de identificar puntos de contacto entre anticuerpo y antígeno. Esos residuos de contacto y residuos contiguos pueden ser diana o eliminarse como candidatos para la sustitución. Las variantes se pueden cribar para determinar si contienen las propiedades deseadas.

[00243] Las inserciones de secuencias de aminoácidos incluyen fusiones del terminal amino y/o carboxilo que varían en longitud de un residuo a polipéptidos que contienen cien o más residuos, así como inserciones intrasecuencia de residuos de aminoácido únicos o múltiples. Los ejemplos de inserciones terminales incluyen un anticuerpo con un residuo metionilo en el terminal N. Otras variantes de inserción de la molécula de anticuerpo incluyen la fusión al terminal N o C del anticuerpo a una enzima (por ejemplo, para ADEPT (tratamiento con profármacos de enzimas dirigidos a anticuerpos)) o un polipéptido que aumenta la semivida sérica del anticuerpo.

b) Variantes de glucosilación

[00244] En determinados aspectos, un anticuerpo proporcionado en la presente se altera para aumentar o disminuir el grado de glucosilación del anticuerpo. La incorporación o eliminación de sitios de glucosilación en un anticuerpo puede lograrse de manera conveniente al alterar la secuencia de aminoácidos a fin de crear o eliminar uno o más sitios de glucosilación.

[00245] Cuando el anticuerpo comprende una región Fc, se puede alterar el carbohidrato unido a este. Los anticuerpos nativos producidos por células de mamíferos comúnmente comprenden un oligosacárido ramificado biantenarico que se une generalmente mediante un enlace N a Asn297 del dominio CH2 de la región Fc. Ver, por ejemplo, Wright *et al.* *TIBTECH* 15:26-32 (1997). El oligosacárido puede incluir diversos carbohidratos, por ejemplo, manosa, N-acetilglucosamina (GlcNAc), galactosa y ácido siálico, así como una fucosa unida a una GlcNAc en el "tallo" de la

estructura del oligosacárido biantenarico. En algunos aspectos, se pueden realizar modificaciones del oligosacárido en un anticuerpo de la invención con el fin de crear variantes de anticuerpos con determinadas propiedades mejoradas.

[00246] En un aspecto, se proporcionan variantes de anticuerpos que tienen un oligosacárido no fucosilado, es decir, una estructura de oligosacárido que carece de fucosa unida (directa o indirectamente) a una región Fc. Dicho oligosacárido no fucosilado (también denominado oligosacárido “afucosilado”) es particularmente un oligosacárido ligado a N que carece de un residuo de fucosa unido a la primera GlcNAc en el tallo de la estructura del oligosacárido biantenarico. En un aspecto, las variantes de anticuerpos se proporcionan con una mayor proporción de oligosacáridos no fucosilados en la región Fc, en comparación con un anticuerpo nativo o de origen. Por ejemplo, la proporción de oligosacáridos no fucosilados puede ser al menos alrededor de 20 %, al menos alrededor de 40 %, al menos alrededor de 60 %, al menos alrededor de 80 %, o incluso alrededor de 100 % (es decir, los oligosacáridos no fucosilados están presentes). El porcentaje de oligosacáridos no fucosilados es la cantidad (promedio) de oligosacáridos que carecen de residuos de fucosa, con respecto a la suma de todos los oligosacáridos unidos a Asn 297 (por ejemplo, estructuras complejas, híbridas y de alta manosa) tal como se mide mediante la espectrometría de masa MALDI-TOF, como se describe en WO 2006/082515, por ejemplo. Asn297 hace referencia al residuo de asparagina ubicado aproximadamente en la posición 297 en la región Fc (numeración de la UE de los residuos de la región Fc); sin embargo, el Asn297 también puede ubicarse en alrededor de ± 3 aminoácidos corriente arriba o corriente abajo de la posición 297, es decir, entre las posiciones 294 y 300, debido a variaciones de secuencia menores en los anticuerpos. Dichos anticuerpos con una mayor proporción de oligosacáridos no fucosilados en la región Fc pueden tener mejor unión al receptor FcγRIIIa y/o mejor función efectora, en particular, mejor función de ADCC. Ver, por ejemplo, US 2003/0157108; US 2004/0093621.

[00247] Los ejemplos de las líneas celulares capaces de producir anticuerpos con fucosilación reducida incluyen células CHO Lec13 deficientes en fucosilación proteica (Ripka *et al. Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); US 2003/0157108; y WO 2004/056312, en especial en el Ejemplo 11), y líneas celulares de inactivación, tales como el gen alfa-1,6-fucosiltransferasa, *FUT8*, células CHO de inactivación (ver, por ejemplo, Yamane-Ohnuki *et al. Biotech. Bioeng.* 87:614-622 (2004); Kanda, Y. *et al., Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006); y WO 2003/085107), o células con

actividad reducida o sin actividad de una síntesis de GDP-fucosa o proteína transportadora (ver, por ejemplo, US2004259150, US2005031613, US2004132140, US2004110282).

[00248] En otro aspecto, se proporcionan variantes de anticuerpos con oligosacáridos bisectados, por ejemplo, en donde un oligosacárido biantenarico unido a la región Fc del anticuerpo se bisecta con GlcNAc. Dichas variantes de anticuerpos pueden tener fucosilación reducida y/o función de ADCC mejorada como se describió anteriormente. Los ejemplos de dichas variantes de anticuerpos se describen, por ejemplo, en Umana *et al.*, Nat Biotechnol 17, 176-180 (1999); Ferrara *et al.*, Biotechn Bioeng 93, 851-861 (2006); WO 99/54342; WO 2004/065540, WO 2003/011878.

[00249] También se proporcionan variantes de anticuerpo con al menos un residuo de galactosa en el oligosacárido unido a la región Fc. Dichas variantes de anticuerpos pueden tener función CDC mejorada. Dichas variantes de anticuerpos se describen, por ejemplo, en WO 1997/30087; WO 1998/58964; y WO 1999/22764.

c) Variantes de la región Fc

[00250] En determinados aspectos, se puede introducir una o más modificaciones de aminoácidos en la región Fc de un anticuerpo proporcionado en la presente y, de esta manera, generar una variante de la región Fc. La variante de región Fc puede comprender una secuencia de región Fc humana (por ejemplo, una región Fc de IgG₁, IgG₂, IgG₃ o IgG₄ humana) que comprende una modificación de aminoácido (por ejemplo, una sustitución) en una o más posiciones de aminoácidos.

[00251] En determinados aspectos, la invención contempla una variante de anticuerpo que posee algunas pero no todas las funciones efectoras, lo que lo convierte en un candidato conveniente para aplicaciones en las cuales la semivida del anticuerpo *in vivo* es importante; sin embargo, determinadas funciones efectoras (tales como citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC)) son innecesarias o perjudiciales. Se pueden realizar ensayos de citotoxicidad *in vitro* y/o *in vivo* para confirmar la reducción/pérdida de las actividades de CDC y/o ADCC. Por ejemplo, pueden llevarse a cabo ensayos de unión al receptor Fc (FcR) para garantizar que el anticuerpo carece de unión a FcγR (y, por lo tanto, probablemente carece de actividad de ADCC), pero conserva la capacidad de unión a FcRn. Las células primarias para mediar la ADCC, células NK, solo expresan FcγRIII, mientras que los monocitos expresan FcγRI, FcγRII y FcγRIII. La expresión de FcR en células hematopoyéticas se resume en la Tabla 3

en la página 464 de Ravetch y Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991). Los ejemplos no limitativos de ensayos *in vitro* para evaluar la actividad de ADCC de una molécula de interés se describen en la patente estadounidense N.º 5.500.362 (ver, por ejemplo, Hellstrom, I. *et al.* *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)) y Hellstrom, I *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 5.821.337 (ver Bruggemann, M. *et al.*, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)). De manera alternativa, pueden emplearse métodos de ensayos no radiactivos (ver, por ejemplo, ensayo de citotoxicidad no radiactivo ACTI™ para la citometría de flujo (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA; y ensayo de citotoxicidad CytoTox 96® no radiactivo (Promega, Madison, WI))). Las células efectoras útiles para tales ensayos incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y células *natural killer* (NK). De manera alternativa o adicional, la actividad de ADCC de la molécula de interés se puede evaluar *in vivo*, por ejemplo, en un modelo animal tal como el que se divulga en Clynes *et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998). También se pueden llevar a cabo ensayos de unión a C1q para confirmar que el anticuerpo no pueda unirse a C1q y, por lo tanto, carezca de actividad de CDC. Ver, por ejemplo, ELISA de unión a C1q y C3c en WO 2006/029879 y WO 2005/100402. Para evaluar la activación del complemento, se puede llevar a cabo un ensayo de CDC (ver, por ejemplo, Gazzano-Santoro *et al.*, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M.S. *et al.*, *Blood* 101:1045-1052 (2003); y Cragg, M.S. Y M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)). También se puede llevar a cabo la unión a FcRn y las determinaciones *in vivo* de eliminación/semivida utilizando métodos conocidos en el estado de la técnica (ver, por ejemplo, Petkova, S.B. *et al.*, *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006); WO 2013/120929 A1).

[00252] Los anticuerpos con una función efectora reducida incluyen aquellos con una sustitución de uno o más de los residuos de la región Fc 238, 265, 269, 270, 297, 327 y 329 (patente estadounidense N.º 6.737.056). Dichos mutantes Fc incluyen los mutantes Fc con sustituciones en dos o más de las posiciones de aminoácidos 265, 269, 270, 297 y 327, que incluyen el mutante Fc denominado "DANA" con sustitución de los residuos 265 y 297 por alanina (patente estadounidense N.º 7.332.581).

[00253] Se describen determinadas variantes de anticuerpos con unión a FcR mejorada o disminuida. (Ver, por ejemplo, la patente estadounidense N.º 6.737.056; WO 2004/056312, y Shields *et al.*, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001).)

[00254] En algunos aspectos, una variante de anticuerpo comprende una región Fc con una o más sustituciones de aminoácidos que mejoran la ADCC, por ejemplo,

sustituciones en las posiciones 298, 333 y/o 334 de la región Fc (numeración de la UE de residuos).

[00255] En determinados aspectos, una variante de anticuerpo comprende una región Fc con una o más sustituciones de aminoácidos que disminuyen la unión a FcγR, por ejemplo, sustituciones en las posiciones 234 y 235 de la región Fc (numeración de UE de residuos). En un aspecto, las sustituciones son L234A y L235A (LALA). En determinados aspectos, la variante de anticuerpo comprende además D265A y/o P329G en una región Fc derivada de una región Fc de IgG₁ humana. En un aspecto, las sustituciones son L234A, L235A y P329G (LALA-PG) en una región Fc derivada de una región Fc de IgG₁ humana. (Ver, por ejemplo, WO 2012/130831). En otro aspecto, las sustituciones son L234A, L235A y D265A (LALA-DA) en una región Fc derivada de una región Fc de IgG₁ humana.

[00256] En algunos aspectos, se realizan alteraciones en la región Fc que generan una unión a C1q y/o una citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) modificada (es decir, mejorada o disminuida), por ejemplo, como se describe en la patente estadounidense N.º 6.194.551, WO 99/51642, e Idusogie *et al.* *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000).

[00257] Los anticuerpos con semividas mejoradas y unión mejorada al receptor Fc neonatal (FcRn), que es responsable de la transferencia de IgG materna al feto (Guyer *et al.*, *J. Immunol.* 117:587 (1976) y Kim *et al.*, *J. Immunol.* 24:249 (1994)), se describen en US2005/0014934 (Hinton *et al.*). Esos anticuerpos comprenden una región Fc con una o más sustituciones en esta que mejoran la unión de la región Fc a FcRn. Dichas variantes de Fc incluyen las que tienen sustituciones en uno o más de los residuos de la región Fc: 238, 252, 254, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424, 428 o 434, por ejemplo, sustitución del residuo 434 de la región Fc (ver, por ejemplo, la patente estadounidense N.º 7.371.826; Dall'Acqua, W.F., *et al.* *J. Biol. Chem.* 281 (2006) 23514-23524). En algunas formas de realización, un anticuerpo proporcionado en la presente comprende sustituciones M428L y/o N434S, tales como M428L y N434S ("LS").

[00258] Los residuos de la región Fc que son esenciales para la interacción Fc de ratón-FcRn de ratón se identificaron mediante mutagénesis dirigida al sitio (ver, por ejemplo, Dall'Acqua, W.F., *et al.* *J. Immunol.* 169 (2002) 5171-5180). Los residuos I253, H310, H433, N434 y H435 (índice de numeración de UE) se involucran en la interacción (Medesan, C., *et al.*, *Eur. J. Immunol.* 26 (1996) 2533; Firan, M., *et al.*, *Int.*

Immunol. 13 (2001) 993; Kim, J.K., *et al.*, Eur. J. Immunol. 24 (1994) 542). Se determinó que los residuos I253, H310 y H435 fueron esenciales para la interacción de Fc humana con FcRn murina (Kim, J.K., *et al.*, Eur. J. Immunol. 29 (1999) 2819). Los estudios del complejo Fc humana-FcRn humana demostraron que los residuos I253, S254, H435 y Y436 son esenciales para la interacción (Firan, M., *et al.*, Int. Immunol. 13 (2001) 993; Shields, R.L., *et al.*, J. Biol. Chem. 276 (2001) 6591-6604). En Yeung, Y.A., *et al.* (J. Immunol. 182 (2009) 7667-7671) se informaron y se examinaron diversos mutantes de residuos 248 a 259 y 301 a 317 y 376 a 382 y 424 a 437.

[00259] En algunos aspectos, una variante de anticuerpo comprende una región Fc con una o más sustituciones de aminoácidos que reducen la unión a FcRn, por ejemplo, sustituciones en las posiciones 253, y/o 310, y/o 435 de la región Fc (numeración de UE de residuos). En determinados aspectos, las variantes de anticuerpos comprenden una región Fc con las sustituciones de aminoácidos en las posiciones 253, 310 y 435. En un aspecto, las sustituciones son I253A, H310A y H435A en una región Fc derivada de una región Fc de IgG1 humana. Ver, por ejemplo, Grevys, A., *et al.*, J. Immunol. 194 (2015) 5497-5508.

[00260] En algunos aspectos, una variante de anticuerpo comprende una región Fc con una o más sustituciones de aminoácidos que reducen la unión a FcRn, por ejemplo, sustituciones en las posiciones 310, y/o 433, y/o 436 de la región Fc (numeración de UE de residuos). En determinados aspectos, las variantes de anticuerpos comprenden una región Fc con las sustituciones de aminoácidos en las posiciones 310, 433 y 436. En un aspecto, las sustituciones son H310A, H433A y Y436A en una región Fc derivada de una región Fc de IgG1 humana. (Ver, por ejemplo, WO 2014/177460 A1).

[00261] En algunos aspectos, una variante de anticuerpo comprende una región Fc con una o más sustituciones de aminoácidos que aumentan la unión a FcRn, por ejemplo, sustituciones en las posiciones 252, y/o 254, y/o 256 de la región Fc (numeración de UE de residuos). En determinados aspectos, las variantes de anticuerpos comprenden una región Fc con las sustituciones de aminoácidos en las posiciones 252, 254 y 256. En un aspecto, las sustituciones son M252Y, S254T y T256E en una región Fc derivada de una región Fc de IgG₁ humana. Ver también Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); la patente estadounidense N.º 5.648.260; la patente estadounidense N.º 5.624.821; y WO 94/29351 con respecto a otros ejemplos de variantes de la región Fc.

[00262] El terminal C de la cadena pesada del anticuerpo como se informa en la

presente puede ser un extremo del terminal C completo con los residuos PGK de aminoácidos. El terminal C de la cadena pesada puede ser un terminal C acortado en donde se removieron uno o dos de los residuos de aminoácidos del terminal C. En un aspecto preferido, el terminal C de la cadena pesada es un PG del extremo del terminal C acortado. En un aspecto de todos los aspectos que se informan en la presente, un anticuerpo que comprende una cadena pesada que incluye un dominio CH3 de terminal C como se especifica en la presente, comprende el dipéptido glicina-lisina del terminal C (G446 y K447, numeración del índice de UE de las posiciones de aminoácidos). En un aspecto de todos los aspectos que se informan en la presente, un anticuerpo que comprende una cadena pesada que incluye un dominio CH3 de terminal C como se especifica en la presente, comprende un residuo de glicina del terminal C (G446, numeración del índice de UE de las posiciones de aminoácidos).

d) Variantes de anticuerpos modificados por ingeniería genética con cisteína

[00263] En algunos aspectos, puede ser conveniente crear anticuerpos modificados por ingeniería genética con cisteína, por ejemplo, anticuerpos THIOMAB™, en los cuales uno o más residuos de un anticuerpo se sustituyen con residuos de cisteína. En aspectos particulares, los residuos sustituidos se producen en sitios accesibles del anticuerpo. Al sustituir esos residuos con cisteína, se ubican grupos tiol reactivos en sitios accesibles del anticuerpo y se pueden utilizar para conjugar el anticuerpo con otras porciones, por ejemplo porciones de fármacos o porciones de fármaco-ligador, para crear un inmunoconjugado, como se describe adicionalmente en la presente. Los anticuerpos modificados por ingeniería genética con cisteína se pueden generar como se describe, por ejemplo, en la patente estadounidense N.º 7.521.541, 8.30.930 s [sic], 7.855.275, 9.000.130 o WO 2016040856.

e) Derivados de anticuerpos

[00264] En determinados aspectos, se puede modificar adicionalmente un anticuerpo proporcionado en la presente para contener porciones no proteicas adicionales que se conocen en el estado de la técnica y se encuentran fácilmente disponibles. Las porciones adecuadas para la derivatización del anticuerpo incluyen, entre otros, polímeros hidrosolubles. Los ejemplos no limitativos de polímeros hidrosolubles en agua incluyen, entre otros, polietilenglicol (PEG), copolímeros de

etilenglicol/propilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, poli-1, 3-dioxolano, poli-1,3,6-trioxano, copolímeros de etileno/anhídrido maleico, poliaminoácidos (homopolímeros o copolímeros aleatorios) y dextrano o poli(n-vinil pirrolidona)polietilenglicol, homopolímeros de propilenglicol, copolímeros de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polioles polioxietilados (por ejemplo, glicerol), alcohol polivinílico, y mezclas de estos. El propionaldehído de polietilenglicol puede tener ventajas en cuanto a su elaboración debido a su estabilidad en agua. El polímero puede ser de cualquier peso molecular y puede ser ramificado o no ramificado. La cantidad de polímeros unidos al anticuerpo puede variar y, de haber más de un polímero unido, estos pueden ser la misma molécula o moléculas diferentes. Por lo general, la cantidad y/o el tipo de polímeros usados para la derivación pueden determinarse en función de consideraciones que incluyen, entre otros, las propiedades o funciones particulares del anticuerpo a mejorar, si el derivado del anticuerpo se usa en un tratamiento en condiciones definidas, etc.

8. Inmunconjugados

[00265] La invención también proporciona inmunconjugados que comprenden un anticuerpo conjugado en la presente (unido químicamente) con uno o más agentes terapéuticos tales como agentes citotóxicos, agentes quimioterapéuticos, fármacos, agentes inhibidores del crecimiento, toxinas (por ejemplo, toxinas proteicas, toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, o fragmentos de estas), o isótopos radioactivos.

[00266] En un aspecto, un inmunconjugado es un conjugado anticuerpo-fármaco (ADC) en donde un anticuerpo se conjuga con uno o más de los agentes terapéuticos mencionados anteriormente. El anticuerpo se conecta normalmente con uno o más de los agentes terapéuticos con el uso de ligadores. Se establece una reseña de la tecnología de ADC que incluye ejemplos de los agentes terapéuticos y fármacos y ligadores en *Pharmacol Review* 68:3-19 (2016).

[00267] En otro aspecto, un inmunconjugado comprende un anticuerpo como se describe en la presente, conjugado con una toxina enzimáticamente activa o un fragmento de esta, que incluye, entre otros, cadena A de la difteria, fragmentos activos que no se unen de la toxina de la difteria, cadena A de exotoxina (de *Pseudomonas aeruginosa*), cadena A de ricina, cadena A de abrina, cadena A de modicina, alfa-sarcina, proteínas *Aleurites fordii*, proteínas diantina, proteínas *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII y PAP-S), inhibidor de *Momordica charantia*, curcina, crotina, inhibidores

de *Sapaonaria officinalis*, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, enomicina y tricotecnos.

[00268] En otro aspecto, un inmunoconjugado comprende un anticuerpo como se describe en la presente, conjugado con un átomo radiactivo para formar un radioconjugado. Una variedad de isótopos radiactivos está disponibles para la producción de radioconjugados. Los ejemplos incluyen At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} e isótopos radiactivos de Lu. Cuando el radioconjugado se usa para la detección, puede comprender un átomo radiactivo para estudios escintigráficos, por ejemplo, tc99m o I^{123} , o una etiqueta de rotación para la generación de imágenes por resonancia magnética nuclear (RMN) (también denominada generación de imágenes por resonancia magnética, IRM), tal como yodo-123 nuevamente, yodo-131, indio-111, flúor-19, carbono-13, nitrógeno-15, oxígeno-17, gadolinio, manganeso o hierro.

[00269] Los conjugados de un anticuerpo y agente citotóxico pueden realizarse utilizando una variedad de agentes de acoplamiento de proteína bifuncional tales como N-succinimidil-3-(2-piridilditio) propionato (SPDP), succinimidil-4-(N-maleimidometil) ciclohexan-1-carboxilato (SMCC), iminotiolano (IT), derivados bifuncionales de imidoésteres (tales como HCl de dimetil adipimidato), ésteres activos (tales como suberato de disuccinimidilo), aldehídos (tales como glutaraldehído), compuestos de bis-azido (tales como bis (p-azidobenzoil) hexandiamina), derivados de bis-diazonio (tales como bis-(p-diazoniobenzoil)-etilendiamina), diisocianatos (tales como tolueno 2,6-diisocianato), y compuestos de flúor bis-activos (tales como 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzeno). Por ejemplo, una inmunotoxina de ricina se puede preparar como se describe en Vitetta *et al.*, Science 238:1098 (1987). El ácido 1-isotiocianatobencil-3-metildietilen triaminopentaacético etiquetado con carbono-14 (MX-DTPA) es un ejemplo de agente quelante para la conjugación de un radionucleótido con el anticuerpo. Ver WO 94/11026. El ligador puede ser un "ligador escindible" que facilita la liberación de un fármaco citotóxico en la célula. Por ejemplo, se puede usar un ligador lábil al ácido, un ligador sensible a la peptidasa, un ligador fotolábil, un ligador de dimetilo o un ligador que contiene disulfuro (Chari *et al.*, Cancer Res. 52:127-131 (1992); patente estadounidense N.º 5.208.020).

[00270] Los inmunoconjugados o ADC en la presente contemplan expresamente, entre otros, a los conjugados preparados con reactivos de reticulación, entre otros, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB,

sulfo-SMCC, sulfo-SMPB, y SVSB (succinimidil-(4-vinilsulfona)benzoato) que se encuentran disponibles en el comercio (por ejemplo, de Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., Estados Unidos).

D. Composiciones y métodos recombinantes

[00271] Los anticuerpos se pueden producir mediante composiciones y métodos recombinantes, por ejemplo, como se describe en US 4.816.567. Para estos métodos, se proporcionan uno o más ácidos nucleicos aislados que codifican un anticuerpo.

[00272] En el caso de un anticuerpo nativo o un fragmento de anticuerpo nativo se requieren dos ácidos nucleicos, uno para la cadena liviana o fragmento de esta y uno para la cadena pesada o fragmento de esta. Tales ácidos nucleicos codifican una secuencia de aminoácidos que comprende la VL y/o una secuencia de aminoácidos que comprende la VH del anticuerpo (por ejemplo, las cadenas livianas y/o pesadas del anticuerpo). Estos ácidos nucleicos pueden estar en el mismo vector de expresión o en diferentes vectores de expresión.

[00273] En el caso de un anticuerpo biespecífico con cadenas pesadas heterodiméricas se requieren cuatro ácidos nucleicos, uno para la primera cadena liviana, uno para la primera cadena pesada que comprende el primer polipéptido de región Fc heteromonomérica, uno para la segunda cadena liviana, y uno para la segunda cadena pesada que comprende el polipéptido de región Fc heteromonomérica. Los cuatro ácidos nucleicos pueden encontrarse en una o más moléculas de ácido nucleico o vectores de expresión. Tales ácidos nucleicos codifican una secuencia de aminoácidos que comprende la primera VL y/o una secuencia de aminoácidos que comprende la primera VH que incluye la primera región Fc heteromonomérica y/o una secuencia de aminoácidos que comprende la segunda VL y/o una secuencia de aminoácidos que comprende la segunda VH que incluye la segunda región Fc heteromonomérica del anticuerpo (por ejemplo, la primera y/o segunda cadenas livianas y la primera y/o segunda cadenas pesadas del anticuerpo). Estos ácidos nucleicos pueden estar en el mismo vector de expresión o en diferentes vectores de expresión; en general, estos ácidos nucleicos se ubican en dos o tres vectores de expresión, es decir, un vector puede comprender más de uno de estos ácidos nucleicos. Los ejemplos de estos anticuerpos biespecíficos son CrossMabs (ver, por ejemplo, Schaefer, W. *et al*, PNAS, 108 (2011) 11187-11191). Por ejemplo, una de las cadenas pesadas heteromonoméricas comprende las denominadas "mutaciones de botón" (T366W y, opcionalmente, uno de S354C o Y349C) y la otra

comprende las denominadas “mutaciones de ojal” (T366S, L368A y Y407V y, opcionalmente, Y349C o S354C) (ver, por ejemplo, Carter, P. *et al.*, Immunotechnol. 2 (1996) 73) de acuerdo con la numeración del índice de la UE.

[00274] En un aspecto, se proporcionan ácidos nucleicos aislados que codifican un anticuerpo como se usa en los métodos que se informan en la presente.

[00275] En un aspecto, se proporciona un método para fabricar un anticuerpo, en donde el método comprende cultivar una célula huésped que comprende ácidos nucleicos que codifican el anticuerpo, como se proporcionó anteriormente, en condiciones adecuadas para la expresión del anticuerpo, y opcionalmente, recuperar el anticuerpo de la célula huésped (o medio de cultivo de la célula huésped).

[00276] Para la producción recombinante de un anticuerpo, los ácidos nucleicos que codifican el anticuerpo, por ejemplo, como se describió anteriormente, se aíslan y se insertan en uno o más vectores para clonación y/o expresión en una célula huésped. Tales ácidos nucleicos pueden aislarse con facilidad y secuenciarse usando procedimientos convencionales (por ejemplo, mediante el uso de sondas de oligonucleótidos capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas pesadas y livianas del anticuerpo) o producirse mediante métodos recombinantes u obtenerse mediante síntesis química.

[00277] Las células huésped adecuadas para clonación o expresión de vectores que codifican anticuerpos incluyen las células procariotas o eucariotas descritas en la presente. Por ejemplo, los anticuerpos se pueden producir en bacterias, en particular, cuando no se necesitan la glucosilación y la función efectora de Fc. Para expresión de fragmentos de anticuerpo y polipéptidos en bacterias, ver, por ejemplo, US 5.648.237, US 5.789.199 y US 5.840.523. (Ver también Charlton, K.A., en: *Methods in Molecular Biology*, vol. 248, Lo, B.K.C. (ed.), Humana Press, Totowa, NJ (2003), pp. 245-254, que describe la expresión de fragmentos de anticuerpo en *E. coli*). Luego de la expresión, el anticuerpo se puede aislar de la pasta de célula bacteriana en una fracción soluble y se puede purificar adicionalmente.

[00278] Además de los procariotas, los microbios eucariotas, tales como hongos filamentosos o levadura, son huéspedes de clonación o expresión adecuados para vectores que codifican anticuerpos, que incluyen cepas de hongos y levaduras cuyas vías de glucosilación se “humanizaron”, lo que generó la producción de un anticuerpo con un patrón de glucosilación parcial o completamente humano. Ver Gerngross, T.U., Nat. Biotech. 22 (2004) 1409-1414; y Li, H. *et al.*, Nat. Biotech. 24 (2006) 210-215.

[00279] Las células huésped adecuadas para la expresión de anticuerpo

(glucosilado) también derivan de organismos multicelulares (invertebrados y vertebrados). Los ejemplos de células de invertebrados incluyen células de plantas e insectos. Se identificaron numerosas cepas baculovirales que se pueden usar en conjunto con células de insectos, en particular, para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*.

[00280] Los cultivos celulares de plantas también se pueden usar como huéspedes. Ver, por ejemplo, US 5.959.177, US 6.040.498, US 6.420.548, US 7.125.978 y US 6.417.429 (que describen la tecnología PLANTIBODIES™ para la producción de anticuerpos en plantas transgénicas).

[00281] Las células de vertebrados también se pueden usar como huéspedes. Por ejemplo, las líneas celulares de mamífero que se adaptan para crecer en suspensión pueden ser útiles. Otros ejemplos de líneas celulares huésped de mamífero útiles son la línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS-7); línea de riñón embrionario humano (células 293 o 293T como se describe, por ejemplo, en Graham, F.L. *et al.*, J. Gen Virol. 36 (1977) 59-74); células de riñón de hámster bebé (BHK); células de Sertoli de ratón (células TM4 como se describe, por ejemplo, en Mather, J.P., Biol. Reprod. 23 (1980) 243-252); células de riñón de mono (CV1); células de riñón de mono verde africano (VERO-76); células del carcinoma del cuello uterino humano (HELA); células de riñón canino (MDCK; células de hígado de ratas búfalo (BRL 3A); células de pulmón humano (W138); células de hígado humano (Hep G2); tumores de mama de ratón (MMT 060562); células TRI (como se describe, por ejemplo, en Mather, J.P. *et al.*, Annals N.Y. Acad. Sci. 383 (1982) 44-68); células MRC 5; y células FS4. Otras líneas celulares huésped de mamífero útiles incluyen células de ovario de hámster chino (CHO), que incluyen células CHO-DHFR (Urlaub, G. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77 (1980) 4216-4220); y líneas celulares de mieloma, tales como Y0, NS0 y Sp2/0. Para una reseña de líneas celulares huésped de determinados mamíferos adecuadas para producción de anticuerpos, ver, por ejemplo, Yazaki, P. y Wu, A.M., Methods in Molecular Biology, Vol. 248, Lo, B.K.C. (ed.), Humana Press, Totowa, NJ (2004), pp. 255-268.

[00282] En un aspecto, la célula huésped es eucariota, por ejemplo, una célula de ovario de hámster chino (CHO) o célula linfocítica (por ejemplo, una célula Y0, NS0, Sp20).

E. Ensayos

[00283] Los anticuerpos anti-KLK7 y anti-KLK5 proporcionados en la presente

pueden identificarse, cribarse o caracterizarse en función de sus propiedades físicas/químicas y/o actividades biológicas mediante diversos ensayos conocidos en el estado de la técnica.

1. Ensayos de unión y otros ensayos

[00284] En un aspecto, un anticuerpo de la invención se evalúa para determinar su actividad de unión al antígeno, por ejemplo, por medio de métodos conocidos, tales como ELISA, transferencia Western, etc.

[00285] En otro aspecto, pueden usarse ensayos de competencia para identificar un anticuerpo que compita con un anticuerpo proporcionado en la presente, tal como hu.1411c-H11L2, por la unión a KLK7. En algunos aspectos, dicho anticuerpo competitivo se une al mismo epítipo (por ejemplo, un epítipo lineal o conformacional) que se une mediante hu.1411c-H11L2. En algunos aspectos, dicho anticuerpo competitivo se une al mismo epítipo (por ejemplo, un epítipo lineal o conformacional) que se une mediante hu.1411c-H11L2. En algunas formas de realización, pueden usarse ensayos de competencia para identificar un anticuerpo que compita con un anticuerpo proporcionado en la presente, tal como hu.10C5-H28L5 o hu.9H5-H14L4, por la unión a KLK5. En algunos aspectos, dicho anticuerpo competitivo se une al mismo epítipo (por ejemplo, un epítipo lineal o conformacional) que se une mediante hu.10C5-H28L5 o hu.9H5-H14L4. Los métodos de ejemplo detalladas para mapear un epítipo al que se une un anticuerpo se proporcionan en Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols", en *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

[00286] En un ensayo de competencia de ejemplo, un antígeno inmovilizado (tal como KLK5 o KLK7) se incuba en una solución que comprende un primer anticuerpo etiquetado que se une al antígeno (por ejemplo, hu.1411c-H11L2, hu.10C5-H28L5 o hu.9H5-H14L4) y un segundo anticuerpo sin etiquetar que se evalúa para determinar su capacidad para competir con el primer anticuerpo por la unión al antígeno. El segundo anticuerpo puede estar presente en un sobrenadante de hibridoma. Como un control, el antígeno inmovilizado se incuba en una solución que comprende el primer anticuerpo etiquetado pero no el segundo anticuerpo sin etiquetar. Después de la incubación en condiciones que permiten la unión del primer anticuerpo al antígeno, se retira el exceso de anticuerpo sin unir, y se mide la cantidad de etiqueta asociada con el antígeno. Si la cantidad de etiqueta asociada con el antígeno inmovilizado se reduce sustancialmente en la muestra de prueba con respecto a la muestra de control, entonces significa que el segundo anticuerpo compite con el primer anticuerpo por la

unión al antígeno. Ver Harlow y Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* cap. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

2. Ensayos de actividad

[00287] KLK7 es una proteasa tipo quimotripsina. En algunas formas de realización, KLK7 escinde polipéptidos después de aminoácidos aromáticos e/o hidrófobos, tal como después de tirosina, fenilalanina, y/o leucina. En un aspecto, se proporcionan ensayos para identificar anticuerpos anti-KLK7 que inhiban la actividad de KLK7 humana. La actividad biológica puede incluir, por ejemplo, actividad de proteasa KLK7. También se proporcionan anticuerpos que tienen dicha actividad biológica *in vivo* e/o *in vitro*.

[00288] En algunos aspectos, un anticuerpo de la invención se evalúa para determinar dicha actividad biológica. Los ensayos para determinar actividad de proteasa KLK7 son conocidos en el estado de la técnica, y en general incluyen incubar KLK7 en presencia de un sustrato y una molécula de prueba (tal como un anticuerpo anti-KLK7). Un ensayo no limitativo para evaluar si un anticuerpo anti-KLK7 (o un anticuerpo multiespecífico que comprende un brazo de unión anti-KLK7) inhibe la actividad de proteasa KLK7 como se indica a continuación: Un ensayo funcional directo de KLK7 puede llevarse a cabo a temperatura ambiente en una placa de 384 cavidades en un volumen de reacción final de 15 μ l. Las muestras de inhibidor se diluyen hasta 3x concentración final en amortiguador de ensayo (75 mM de Tris, pH 8,0, 150 mM de NaCl, 0,01 % de Tween 20). Las muestras de inhibidor (por ejemplo, anticuerpo anti-KLK7) o control (5 μ l) se agregan a la placa, y luego se agregan 5 μ l de KLK7 humana (SEQ ID NO: 4) en un amortiguador de ensayo en una concentración final de 0,5 nM. Después de 40 min, se agregan 5 μ l de Mca-RPKPVE-Nval-WRK(Dnp) (SEQ ID NO: 121; Bachem M-2110, 4,3 mM de solución de reserva en DMSO) en una concentración final de 10 μ M en un amortiguador de ensayo. Después de la adición de sustrato, la placa se lee en un lector de microplacas PHERAstar® (BMG Labtech) usando un módulo óptico FI 320 405 con un aumento establecido en 0 %. Se efectúan mediciones cada 100 s durante ~1,5 h. Las velocidades de reacción (expresadas como RFU/s) se calculan mediante regresión lineal en el rango lineal. Las velocidades de reacción pueden normalizarse a los valores de 0 % y 100 % de actividad de control, y se ajustaron con una ecuación de 4 parámetros para calcular los valores de IC₅₀. Para inhibidores bivalentes, la IC₅₀ sin procesar puede multiplicarse por dos.

[00289] KLK5 es una proteasa tipo tripsina. En un aspecto, se proporcionan

ensayos para identificar anticuerpos anti-KLK5 que inhiban la actividad de KLK5 humana. La actividad biológica puede incluir, por ejemplo, actividad de proteasa KLK5. En una forma de realización, los anticuerpos anti-KLK5 inhiben la actividad de serina proteasa de KLK5. También se proporcionan anticuerpos que tienen dicha actividad biológica *in vivo* e/o *in vitro*.

[00290] En algunos aspectos, un anticuerpo de la invención se evalúa para determinar dicha actividad biológica. Los ensayos para determinar actividad de proteasa KLK5 son conocidos en el estado de la técnica, y pueden incluir, por ejemplo, incubar KLK5 en presencia de un sustrato y una molécula de prueba (tal como un anticuerpo anti-KLK5). En algunas formas de realización, la actividad biológica de un anticuerpo anti-KLK5 se evalúa mediante uno o más métodos seleccionados de un ensayo de actividad directa, ensayo de péptido fluorescente, ensayo LC/MS y ensayo Ki(app). En algunas formas de realización, la actividad biológica se mide por medio de uno o más métodos seleccionados de un ensayo de actividad directa de KLK5 recombinante, ensayo de péptido fluorescente pro-KLK1 acoplado, un ensayo de péptido fluorescente pro-KLK7 acoplado, un ensayo LC/MS pro-KLK1, un ensayo LC/MS pro-KLK7 y un ensayo Ki(app). En algunas formas de realización, los valores de IC₅₀ se miden por medio de los ensayos descritos en la presente. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK5 de la invención inhibe la actividad biológica de KLK5 en al menos 50 % según se midió por medio de uno o más métodos seleccionados de un ensayo de actividad directa de KLK5 recombinante, ensayo de péptido fluorescente pro-KLK1 acoplado, un ensayo de péptido fluorescente pro-KLK7 acoplado, un ensayo LC/MS pro-KLK1, un ensayo LC/MS pro-KLK7 y un ensayo Ki(app). En algunas formas de realización, la actividad biológica es la actividad de serina proteasa de KLK5. En algunas formas de realización, los valores de IC₅₀ se miden por medio de los ensayos descritos en la presente.

[00291] Un ensayo no limitativo para evaluar si un anticuerpo anti-KLK5 (o un anticuerpo multiespecífico que comprende un brazo de unión anti-KLK5) inhibe la actividad de proteasa KLK5 como se indica a continuación: Un ensayo funcional directo de KLK5 puede llevarse a cabo a temperatura ambiente en una placa de 384 cavidades en un volumen de reacción final de 15 µl. Las muestras de inhibidor se diluyen hasta 3x concentración final en amortiguador de ensayo (75 mM de Tris, pH 8,0, 150 mM de NaCl, 0,01 % de Tween 20). Las muestras de inhibidor (por ejemplo, anticuerpo anti-KLK5) o control (5 µl) se agregan a la placa, y luego se agregan 5 µl de KLK5 humana (SEQ ID NO: 2) en un amortiguador de ensayo en una concentración

final de 0,5 nM. Después de 40 min, se agregan 5 µl de Boc-Val-Pro-Arg-AMC (Bachem I-1120, 31,3 mM de solución de reserva en agua) en una concentración final de 50 µM en un amortiguador de ensayo. Después de la adición de sustrato, la placa se lee en un lector de microplacas PHERAstar® (BMG Labtech) usando un módulo óptico FI 320 405 con un aumento establecido en 0 %. Se efectúan mediciones cada 100 s durante ~1,5 h. Las velocidades de reacción (expresadas como RFU/s) se calculan mediante regresión lineal en el rango lineal. Las velocidades de reacción pueden normalizarse a los valores de 0 % y 100 % de actividad de control, y se ajustaron con una ecuación de 4 parámetros para calcular los valores de IC50. Para inhibidores bivalentes, la IC50 sin procesar puede multiplicarse por dos.

F. Métodos y composiciones para el diagnóstico y la detección

[00292] En algunos aspectos, cualquiera de los anticuerpos proporcionados en la presente resulta útil para detectar la presencia de antígeno en una muestra biológica. Como se usa en la presente, el término “detectar” abarca la detección cuantitativa o cualitativa. En algunos aspectos, una muestra biológica comprende una célula o tejido, tal como una muestra de piel.

[00293] En un aspecto, se proporciona un anticuerpo para usar en un método de diagnóstico o detección. En un aspecto adicional, se proporciona un método para detectar la presencia de KLK5 y/o KLK7 en una muestra biológica. En algunos aspectos, el método comprende poner en contacto la muestra biológica con un anticuerpo anti-KLK5 o anticuerpo anti-KLK7 descrito en la presente en condiciones que permiten la unión del anticuerpo a su antígeno, y detectar si se forma un complejo entre el anticuerpo y el antígeno. Tal método puede ser un método *in vitro* o *in vivo*. En algunas formas de realización, los métodos para seleccionar pacientes para un tratamiento con un anticuerpo proporcionado en la presente comprenden determinar la expresión de KLK5 y/o KLK7 en una muestra del paciente.

[00294] En algunos aspectos, se proporcionan anticuerpos anti-KLK7 etiquetados. En algunos aspectos, se proporcionan anticuerpos anti-KLK5 etiquetados. En algunos aspectos, se proporcionan anticuerpos multiespecíficos anti-KLK5/KLK7 etiquetados. Las etiquetas incluyen, entre otras, etiquetas o porciones que se detectan directamente (tales como etiquetas fluorescentes, cromóforas, densas en electrones, quimioluminiscentes y radiactivas), así como porciones, tales como enzimas o ligandos, que se detectan indirectamente, por ejemplo, a través de una reacción enzimática o interacción molecular. Las etiquetas de ejemplo incluyen, entre otras, los

radioisótopos ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H y ^{131}I , fluoróforos, tales como quelatos de tierras raras o fluoresceína y sus derivados, rodamina y sus derivados, dansilo, umbeliferona, luciferinas, por ejemplo, luciferina de luciérnaga y luciferina bacteriana (patente estadounidense N.º 4.737.456), luciferina, 2,3-dihidroftalazindionas, peroxidasa de rábano picante (HRP), fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, glucoamilasa, lisozima, sacárido oxidasas, por ejemplo, glucosa oxidasa, galactosa oxidasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, oxidasas heterocíclicas, tales como uricasa y xantina oxidasa, acopladas con una enzima que usa peróxido de hidrógeno para oxidar un precursor de tinte, tal como HRP, lactoperoxidasa o microperoxidasa, biotina/avidina, etiquetas giratorias, etiquetas de bacteriófagos, radicales libres estables, y similares.

G. Composiciones farmacéuticas

[00295] En otro aspecto, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los anticuerpos proporcionados en la presente, por ejemplo, para su uso en cualquiera de los métodos terapéuticos a continuación. En un aspecto, una composición farmacéutica comprende cualquiera de los anticuerpos proporcionados en la presente y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico. En otro aspecto, una composición farmacéutica comprende cualquiera de los anticuerpos proporcionados en la presente y al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, como se describe más adelante.

[00296] Las composiciones farmacéuticas de un anticuerpo anti-KLK7 y/o anticuerpo anti-KLK5 y/o anticuerpo anti-KLK5/KLK7 como se describe en la presente se preparan al mezclar dicho anticuerpo o anticuerpos que tiene el grado de pureza deseado con uno o más portadores aceptables desde el punto de vista farmacéutico opcionales (*Remington's Pharmaceutical Sciences* 16.^a edición, Osol, A. Ed. (1980)), en forma de composiciones liofilizadas o soluciones acuosas. Por lo general, los portadores aceptables desde el punto de vista farmacéutico no son tóxicos para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen, entre otros: amortiguadores tales como histidina, fosfato, citrato, acetato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes, que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencil amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio; cloruro de bencetonio; alcohol de fenol, butilo o bencilo; parabenos de alquilo tales como parabeno de metilo o propilo; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de alrededor de 10 residuos); proteínas, tales como albúmina de suero, gelatina o inmunoglobulinas;

polímeros hidrófilos, tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos, tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos, que incluyen glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes, tales como EDTA; azúcares, tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales, tales como sodio; complejos de metal (por ejemplo, complejos de proteína Zn); y/o tensioactivos no iónicos, tales como polietilenglicol (PEG). Los portadores farmacéuticamente aceptables de ejemplo de la presente también incluyen agentes de dispersión de fármacos intersticiales, tales como glucoproteínas hialuronidasas solubles activas a pH neutro (sHASEGP), por ejemplo, glucoproteínas hialuronidasas solubles PH-20 humanas, tales como rHuPH20 (HYLENEX®, Halozyme, Inc.). Algunas sHASEGP de ejemplo y los métodos para su uso, que incluyen rHuPH20, se describen en la publicación de patente estadounidense N.º 2005/0260186 y 2006/0104968. En un aspecto, sHASEGP se combina con una o más glucosaminoglicanasas adicionales, tal como condroitinasas.

[00297] En algunas formas de realización, un anticuerpo o anticuerpos proporcionados en la presente se formulan para la administración subcutánea. En algunas formas de realización, un anticuerpo o anticuerpos proporcionados en la presente se formulan para la administración intravenosa. En algunas formas de realización, un anticuerpo o anticuerpos proporcionados en la presente se formulan para la administración tópica.

[00298] Se describen ejemplos de composiciones de anticuerpos liofilizadas en la patente estadounidense N.º 6.267.958. Las composiciones de anticuerpos acuosas incluyen las descritas en la patente estadounidense N.º 6.171.586 y WO 2006/044908, y las composiciones de esta última incluyen un amortiguador de histidina-acetato.

[00299] La composición farmacéutica en la presente también puede contener más de un ingrediente activo según sea necesario para la afección en particular que se trata, preferentemente, aquellos con actividades complementarias que no se afectan negativamente entre sí. Por ejemplo, en algunas formas de realización, una composición farmacéutica comprende un anticuerpo anti-KLK7 en combinación con un anticuerpo anti-KLK5. Dichos ingredientes activos se encuentran en una combinación adecuada en una cantidad eficaz para el fin previsto.

[00300] Los ingredientes activos pueden estar contenidos en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o por polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de gelatina o hidroximetilcelulosa y microcápsulas de poli-(metilmetacrilato), respectivamente, en sistemas coloidales de

administración del fármaco (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Dichas técnicas se divulgan en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16.^a edición, Osol, A. Ed., (1980).

[00301] Pueden prepararse composiciones farmacéuticas de liberación sostenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el anticuerpo, cuyas matrices están en forma de artículos conformados, por ejemplo, películas o microcápsulas.

[00302] Por lo general, las composiciones farmacéuticas para usar en la administración *in vivo* son estériles. La esterilidad se puede lograr fácilmente, por ejemplo, mediante la filtración a través de membranas de filtración estériles.

H. Métodos terapéuticos y vías de administración

[00303] Cualquiera de los anticuerpos proporcionados en la presente puede usarse en los métodos terapéuticos, solo o en combinación.

[00304] En un aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-KLK7 para usar como un medicamento. En un aspecto, se proporciona un anticuerpo anti-KLK5 para usar como un medicamento. En un aspecto, se proporciona un anticuerpo multiespecífico anti-KLK5/KLK7 para usar como un medicamento. En un aspecto, se proporciona una combinación de un anticuerpo anti-KLK7 y un anticuerpo anti-KLK5 para usar como un medicamento. En otros aspectos, se proporcionan tales anticuerpos para usar en el tratamiento de síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y/o rosácea. En algunos aspectos, se proporciona un anticuerpo anti-KLK7 para usar en un método de tratamiento. En algunos aspectos, se proporciona un anticuerpo anti-KLK5 para usar en un método de tratamiento. En algunos aspectos, se proporciona un anticuerpo multiespecífico anti-KLK5/KLK7 para usar en un método de tratamiento. En algunos aspectos, se proporciona una combinación de un anticuerpo anti-KLK7 y anticuerpo anti-KLK5 para usar en un método de tratamiento. En algunos aspectos, la invención proporciona tales anticuerpos para usar en un método para tratar a un individuo que tiene síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y/o rosácea que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo o anticuerpos. En uno de estos aspectos, el método también comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de al menos un agente terapéutico adicional (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis agentes

terapéuticos adicionales), por ejemplo, como se describe a continuación.

[00305] En otros aspectos, la invención proporciona un anticuerpo anti-KLK7 y/o un anticuerpo anti-KLK5 y/o un anticuerpo multiespecífico anti-KLK5/KLK5 para usar para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel. En algunos aspectos, la invención proporciona un anticuerpo anti-KLK7 y/o un anticuerpo anti-KLK5 y/o un anticuerpo multiespecífico anti-KLK5/KLK5 para usar en un método para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo o anticuerpos para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis y/o restaurar la barrera epitelial. De acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores, un “individuo” es, preferentemente, un ser humano.

[00306] En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un anticuerpo anti-KLK7 y/o un anticuerpo anti-KLK5 y/o un anticuerpo multiespecífico anti-KLK5/KLK5 para la fabricación o preparación de un medicamento. En un aspecto, el medicamento es para el tratamiento de síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y/o rosácea. En otro aspecto, el medicamento es para usar en un método para tratar síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y/o rosácea que comprende administrar al individuo que tiene síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y/o rosácea una cantidad eficaz del medicamento. En uno de estos aspectos, el método también comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, como se describe a continuación. En otro aspecto, el medicamento es para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel. En otro aspecto, el medicamento es para usar en un método para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la

piel en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del medicamento para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis y/o restaurar la barrera epitelial. De acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores, un "individuo" puede ser un ser humano.

[00307] En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y/o rosácea. En un aspecto, el método comprende administrar al individuo que tiene síndrome de Netherton, asma, dermatitis atópica, psoriasis, esofagitis eosinofílica y/o rosácea una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-KLK7 y/o un anticuerpo anti-KLK5 y/o un anticuerpo multiespecífico anti-KLK5/KLK5. En uno de estos aspectos, el método también comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de al menos un agente terapéutico adicional, como se describe a continuación.

[00308] En algunas formas de realización, se proporcionan métodos para mejorar la erupción cutánea y/o descamación en un individuo con síndrome de Netherton, que comprenden administrar al individuo una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-KLK7 y/o un anticuerpo anti-KLK5 y/o un anticuerpo multiespecífico anti-KLK5/KLK7.

[00309] De acuerdo con cualquiera de los aspectos anteriores, un "individuo" puede ser un ser humano.

[00310] En otro aspecto, la invención proporciona un método para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel en un individuo. En un aspecto, el método comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-KLK7 y/o un anticuerpo anti-KLK5 y/o un anticuerpo multiespecífico anti-KLK5/KLK5 para reducir la inflamación del epitelio, reducir la permeabilidad del epitelio, reducir la pérdida de agua transepidérmica, reducir los infiltrados dérmicos, reducir la paraqueratosis, restaurar la barrera epitelial y/o reducir las citosinas inflamatorias de la piel. Los ejemplos no limitativos de citosinas inflamatorias de la piel incluyen IL-8, TNF α , IL-6, IL-4 y G-CSF. En un aspecto, un "individuo" es un ser humano.

[00311] En un aspecto adicional, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los anticuerpos proporcionados en la presente, por ejemplo, para su uso en cualquiera de los métodos terapéuticos

anteriores. En un aspecto, una composición farmacéutica comprende cualquiera de los anticuerpos proporcionados en la presente y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico. En otro aspecto, una composición farmacéutica comprende cualquiera de los anticuerpos proporcionados en la presente y al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, como se describe más adelante.

[00312] Los anticuerpos de la invención pueden administrarse solos o usarse en un tratamiento conjunto. Por ejemplo, el tratamiento conjunto incluye administrar un anticuerpo de la invención y administrar al menos un agente terapéutico adicional (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis agentes terapéuticos adicionales). En algunos aspectos, el tratamiento conjunto comprende administrar un anticuerpo de la invención y administrar al menos un agente terapéutico adicional, tal como un agente antiinflamatorio. En algunas formas de realización, el agente antiinflamatorio se administra por vía oral. En algunas formas de realización, el agente antiinflamatorio se administra por vía tópica. Los agentes antiinflamatorios incluyen, entre otros, antibióticos de dosis bajas, esteroides, corticosteroides, tacrolimus, anticuerpos anti-IL4R, inhibidores de TNF, inhibidores de IL-12/23, inhibidores de IL-17 e inhibidores del receptor de IL-4. Los ejemplos no limitativos de agentes antiinflamatorios incluyen doxiciclina, metotrexato, prednisona, ciclosporina, micofenolato mofetil, dupilumab, certolizumab pegol, etanercept, adalimumab, infliximab, golimumab, ustekinumab, secukinumab, ixekizumab, brodalumab, abatacept, tidrakizumab-asmn, risankisumab-rzaa y guselkumab.

[00313] En algunas formas de realización, por ejemplo, en el tratamiento de rosácea, el agente terapéutico adicional es doxiciclina administrada por vía oral. En algunas formas de realización, por ejemplo, en el tratamiento de dermatitis atópica, el agente terapéutico adicional es dupilumab administrado por vía subcutánea; y/o un esteroide administrado por vía tópica. En algunas formas de realización, por ejemplo, en el tratamiento de rosácea, el agente terapéutico adicional se selecciona de un esteroide administrado por vía tópica; metotrexato administrado por vía oral; ciclosporina administrada por vía oral; y un inhibidor de TNF, en general, administrado por vía subcutánea.

[00314] Tales tratamientos conjuntos indicados anteriormente comprenden la administración combinada (en donde se incluyen dos o más agentes terapéuticos en la misma o en composiciones farmacéuticas separadas) y la administración separada, en cuyo caso la administración del anticuerpo de la invención puede producirse antes, al mismo tiempo y/o después de la administración del agente o de los agentes

terapéuticos adicionales. En un aspecto, la administración del anticuerpo o anticuerpos de la invención y la administración de un agente terapéutico adicional se producen con una diferencia de alrededor de un mes, o dentro de alrededor de una, dos o tres semanas, o dentro de alrededor de uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis días, entre sí. En un aspecto, el anticuerpo y el agente terapéutico adicional se administran al paciente en el Día 1 del tratamiento.

[00315] Un anticuerpo de la invención (y cualquier agente terapéutico adicional) se puede administrar mediante cualquier medio adecuado, que incluye administración parenteral, intrapulmonar e intranasal, y, si se desea, para el tratamiento local, intralesional. Las infusiones parenterales incluyen la administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea. La administración puede llevarse a cabo mediante cualquier vía adecuada, por ejemplo, mediante inyecciones, tales como inyecciones intravenosas o subcutáneas, lo que depende, en parte, de si la administración es breve o crónica. En la presente se contemplan varios cronogramas de dosis, que incluyen, entre otras, administraciones simples o múltiples durante diversos puntos temporales, administración por bolo e infusión de pulso.

[00316] En algunas formas de realización, un anticuerpo de la invención se administra por vía subcutánea. En algunas formas de realización, el anticuerpo se administra cada cuatro semanas o una vez por mes. En algunas formas de realización, un anticuerpo de la invención se administra por vía intravenosa. En algunas formas de realización, el anticuerpo se administra cada cuatro semanas o una vez por mes. En algunas formas de realización, por ejemplo, cuando el anticuerpo comprende sustituciones de prolongación de semivida, tales como M428L (numeración EU) y N434S (numeración EU), el anticuerpo se administra cada ocho semanas.

[00317] Los anticuerpos de la invención se pueden formular, dosificar y administrar de acuerdo con las buenas prácticas médicas. Algunos factores que se consideran en este contexto son el trastorno particular que se trata, el mamífero particular que se trata, la afección clínica del paciente, la causa del trastorno, el sitio de administración del agente, el método de administración, la programación de la administración y otros factores conocidos por los médicos. No es necesario que el anticuerpo se formule con uno o más agentes que se usan actualmente para prevenir o tratar el trastorno en cuestión, pero opcionalmente puede formularse de esa manera. La cantidad eficaz de esos otros agentes depende de la cantidad de anticuerpo presente en la composición farmacéutica, el tipo de trastorno o tratamiento y otros factores mencionados anteriormente. Estos se usan, en general, en las mismas dosis

y mediante las vías de administración descritas en la presente, o alrededor de 1 a 99 % de las dosis descritas en la presente, o en cualquier dosis y mediante cualquier vía considerada adecuada de manera empírica/clínica.

[00318] Para la prevención o el tratamiento de la enfermedad, la dosis adecuada de un anticuerpo de la invención (cuando se usa solo o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales distintos) dependerá del tipo de enfermedad que se desea tratar, el tipo de anticuerpo, la gravedad y evolución de la enfermedad, si el anticuerpo se administra con fines preventivos o terapéuticos, el tratamiento previo, la historia clínica del paciente y la respuesta al anticuerpo, y el criterio del médico tratante. El anticuerpo se administra de manera adecuada al paciente de una sola vez o en una serie de tratamientos. Según el tipo y la gravedad de la enfermedad, se pueden administrar al paciente alrededor de 1 µg/kg a 15 mg/kg (por ejemplo, 0,1 mg/kg-10 mg/kg) de anticuerpo como dosis inicial, ya sea, por ejemplo, mediante una o más administraciones separadas o mediante infusión continua. Una dosis diaria típica puede variar de alrededor de 1 µg/kg a 100 mg/kg o más, según los factores mencionados anteriormente. Por lo general, en el caso de administraciones repetidas durante el transcurso de varios días o más, según cuál sea la afección, el tratamiento se mantendrá hasta que se logre la eliminación deseada de los síntomas de la enfermedad. Un ejemplo de dosis del anticuerpo está en el rango de alrededor de 0,05 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg. Por lo tanto, pueden administrarse al paciente una o más dosis de alrededor de 0,5 mg/kg, 2,0 mg/kg, 4,0 mg/kg o 10 mg/kg (o cualquier combinación de estas). Estas dosis se pueden administrar de manera intermitente, por ejemplo, una vez a la semana o cada tres semanas (por ejemplo, de modo que el paciente reciba de alrededor de dos a alrededor de veinte, o, por ejemplo, alrededor de seis dosis del anticuerpo). Se puede administrar una dosis de carga inicial mayor seguida por una o más dosis menores. Sin embargo, otros regímenes de dosis pueden ser útiles. La evolución de este tratamiento se controla con facilidad mediante técnicas y ensayos convencionales.

[00319] En diversas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK5 usado en un método de la presente se puede reemplazar con un antagonista KLK5, en donde el antagonista KLK5 inhibe la actividad de proteasa KLK5. En diversas formas de realización, un anticuerpo anti-KLK7 usado en un método de la presente se puede reemplazar con un antagonista KLK7, en donde el antagonista KLK7 inhibe la actividad de proteasa KLK5. En diversas formas de realización, un anticuerpo biespecífico anti-KLK5.KLK7 usado en un método de la presente se puede reemplazar con un

antagonista KLK5/KLK7, en donde el antagonista KLK5/ KLK7 inhibe la actividad de proteasa KLK5 y la actividad de proteasa KLK7.

I. Artículos de fabricación

[00320] En otro aspecto de la invención, se proporciona un artículo de fabricación que contiene materiales útiles para el tratamiento, prevención y/o diagnóstico de los trastornos descritos anteriormente. El artículo de fabricación comprende un recipiente y una etiqueta o prospecto en el recipiente o asociado con este. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas, bolsas de solución IV, etc. Los recipientes pueden formarse de una variedad de materiales, tales como vidrio o plástico. El recipiente contiene una composición que es eficaz, por sí misma o en combinación con otra composición, para tratar, prevenir y/o diagnosticar una afección y puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón que puede perforarse con una aguja de inyección hipodérmica). Al menos un agente activo en la composición es un anticuerpo de la invención. La etiqueta o el prospecto indican que la composición se usa para tratar la afección determinada. Además, el artículo de fabricación puede comprender (a) un primer recipiente que contiene una composición, en donde la composición comprende un anticuerpo de la invención; y (b) un segundo recipiente que contiene una composición, en donde la composición comprende otro agente citotóxico o de otro modo terapéutico. El artículo de fabricación en este aspecto de la invención también puede comprender un prospecto que indica que las composiciones se pueden usar para tratar una afección particular. De manera alternativa o adicional, el artículo de fabricación también puede comprender un segundo (o tercer) recipiente que comprende un amortiguador aceptable desde el punto de vista farmacéutico, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), solución salina amortiguada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. También puede incluir otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, que incluyen otros amortiguadores, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

III. EJEMPLOS

[00321] A continuación, se presentan ejemplos de métodos y composiciones de la invención. Cabe destacar que varias otras formas de realización se pueden poner en práctica de acuerdo con la descripción general proporcionada anteriormente.

Ejemplo 1: Generación de anticuerpos anti-KLK7

[00322] Conejos blancos de Nueva Zelanda se inmunizaron con KLK7 humana (SEQ ID NO: 4) y linfocitos B únicos se aislaron usando un protocolo modificado relacionado con la literatura publicada. Ver, por ejemplo, Offner et al., *PLoS ONE* 9(2), 2014. Este flujo de trabajo modificado incluyó clasificación FACS directa de linfocitos B IgG⁺ huKLK7⁺ en cavidades simples. Los sobrenadantes de cultivo de linfocitos B se evaluaron mediante ELISA para determinar la unión a KLK7 humana y una proteína de control irrelevante. Los linfocitos B específicos para KLK7 se lisaron y se congelaron de inmediato a -80 °C para su almacenamiento hasta la clonación molecular. Las regiones variables (VH y VL) de cada anticuerpo monoclonal de linfocitos B de conejo se clonaron en vectores de expresión de mRNA extraído, como se describió previamente. Ver *id.* Los anticuerpos de conejo recombinantes individuales se expresaron en células Expi293 y luego se purificaron con proteína A. Se obtuvieron ~244 anticuerpos anti-KLK7 que se unían a KLK7 humana y de *Macaca fascicularis*. 171 anticuerpos se clonaron y se expresaron para determinar caracterización adicional. Los anticuerpos anti-KLK7 purificados se cribaron para determinar la afinidad de unión a huKLK7, la selectividad a huKLK7 y la actividad funcional.

[00323] La afinidad de unión de los anticuerpos se determinó mediante una máquina BIAcore™ T200. Los anticuerpos de conejo se expresaron de manera recombinante. Para mediciones cinéticas, los anticuerpos se capturaron en un chip de proteína A de grado de investigación (GE Healthcare, EE.UU.) para lograr alrededor de 300 RU. Diluciones en serie de 10 veces de KLK7 humana y de *Macaca fascicularis* se inyectaron en amortiguador HBS-P a 25 °C con una velocidad de flujo de 30 µl/min. Las velocidades de asociación (ka) y velocidades de disociación (kd) se calcularon usando un modelo de unión Langmuir 1:1 (BIAcore™ T200 Evaluation Software versión 2.0). La constante de disociación de equilibrio (KD) se calculó como la relación kd/ka.

[00324] Los resultados de las velocidades de disociación frente a KLK7 humana y KLK7 de *Macaca fascicularis* para un subconjunto de los anticuerpos más potentes se muestran en la Tabla 1. No se observó unión a huKLK1, huKLK4, huKLK5 o huKLK11, lo que confirmó que estos anticuerpos eran específicos.

Tabla 1

Clon ID	hu KLK7 kd (1/s)	Cy KLK7 kd (1/s)
5D10	<1E-6	<1E-6
7C7(14D10)	<1E-6	2,08E-5

9C7	<1E-6	3,66E-5
11D11	<1E-6	1,06E-4
15A2	<1E-6	3,90E-4
14H11	<1E-6	<1E-6
12F11	2,84E-5	4,95E-4
13A4	<1E-6	<1E-6
13C10	<1E-6	1,78E-4
15E6	<1E-6	7,65E-5
10C8	<1E-6	1,97E-4
11H7	3,51E-4	1,53E-4
27E9	4,02E-3	3,06E-4
17B9	1,25E-3	6,96E-4
25B8	2,87E-5	4,01E-4
27D10	4,34E-4	9,75E-4
2-18D4	1e-5	1e-5

[00325] Un ensayo funcional directo de KLK7 se llevó a cabo a temperatura ambiente en una placa de 384 cavidades (fondo redondo de bajo volumen, negro Corning N.º 4514) con un volumen de reacción final de 15 µl. Las muestras de inhibidor se diluyeron hasta 3x concentración final en amortiguador de ensayo (75 mM de Tris, pH 8,0, 150 mM de NaCl, 0,01 % de Tween 20). Las reacciones sin inhibidor y reacciones con 200 nM de SFTI 21705 final (Genentech, 10 mM de reserva en DMSO; también denominado SFTI-KLK7; secuencia GKCLFSNPPICFPN (SEQ ID NO: 196); ver, por ejemplo, de Veer *et al.*, 2017, *J. Investig. Dermatol.*, 137: 430-439) se usaron como controles de actividad al 100 % y 0 %, respectivamente. Se agregaron muestras de control o inhibidor (5 µl) a la placa, y luego 5 µl de KLK7 humana (SEQ ID NO: 4 y una etiqueta FLAG de terminal C; Genentech) o 5 µl de KLK7 de *Macaca fascicularis* (SEQ ID NO: 6 y una etiqueta FLAG de terminal C; Genentech) en amortiguador de ensayo en una concentración final de 0,5 nM (ensayo de sustrato Mca). Después de 40 min, se agregaron 5 µl de Mca-RPKPVE-Nval-WRK(Dnp) (SEQ ID NO: 121; Bachem M-2110, 4,3 mM de solución de reserva en DMSO) en una concentración final de 10 µM de sustrato en amortiguador de ensayo. Después de la adición de sustrato, la placa se leyó en un lector de microplacas PHERAstar® (BMG Labtech) usando un módulo óptico FI 320 405 con una ganancia establecida en 0 %. Se efectuaron mediciones cada 100 s durante ~1,5 h. Las velocidades de reacción (expresadas

como RFU/s) se calcularon mediante regresión lineal en el rango lineal. Las velocidades de reacción se normalizaron a los valores de 0 % y 100 % de actividad de control, y se ajustaron con una ecuación de 4 parámetros para calcular los valores de IC50. Para algunos datos en relación con los inhibidores bivalentes, la IC50 sin procesar se multiplicó por dos, como se indica a continuación.

[00326] Las velocidades iniciales se calcularon para cavidad de ensayo mediante regresión lineal de las unidades de luminiscencia relativa (RFU) medidas en cada punto temporal. En general, se ignoraron los primeros dos puntos temporales. Los porcentajes de actividad de control se calcularon con respecto al promedio de los controles de inhibición nula e inhibición completa. Estos porcentajes de actividad de control se representaron frente a la concentración de inhibidor, y se ajustaron usando una ecuación de 4 parámetros para determinar los valores de IC50. La Tabla 2 muestra los resultados de los ensayos de inhibición de KLK7 humana y KLK7 de *Macaca fascicularis* para algunos clones de anticuerpo. En la Tabla 2, no se corrigió la bivalencia de las IC50 dado que todos los clones son bivalentes.

Tabla 2: IC50 para anticuerpos anti-KLK7 usando sustrato de péptido MCA, bivalencia no representada para IC50 (Figura 1a y b)

Clon ID	Hu KLK7 (0,5 nM) IC50 (nM)	Cy KLK7 (0,3125 nM (nM)
5D10	0,15±0,01	0,18±0,009
7C7(14D10)	0,11±0,004	0,07±0,006
9C7	1,19±0,04	0,47±0,016
11D11	0,12±0,004	0,09±0,004
15A2	0,2±0,01	0,90±0,088
14H11	0,11±0,004	0,15±0,004
12F11	0,31±0,013	1,58±0,18
13A4	0,79±0,02	0,51±0,046
13C10	0,12±0,005	0,51±0,023
15E6	0,1±0,01	0,25±0,008
10C8	0,28±0,02	0,21±0,009
11H7	0,12±0,01	0,13±0,005
27E9	0,28±0,02	0,18±0,006
17B9	1,59±0,18	3,37±1,26

25B8	0,24±0,01	0,17±0,011
27D10	0,43±0,05	2,98±0,565

Ejemplo 2: Humanización de anticuerpos anti-KLK7

[00327] Después de cribarse como se describió en el Ejemplo 1, 17 anticuerpos con la mejor actividad inhibidora se seleccionaron para caracterización adicional. El anticuerpo con la mayor afinidad de unión, actividad inhibidora, y menos problemas de fabricación (14H11) se seleccionó para humanización. Inicialmente, la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 14H11 (SEQ ID NO: 116) se modificó al sustituir C35a con S para eliminar una cisteína no emparejada, lo que produjo el anticuerpo 14H11c (VH, SEQ ID NO: 13; VL SEQ ID NO: 14).

[00328] El anticuerpo monoclonal de conejo 14H11c se humanizó como se indica a continuación. Los números de residuo son de acuerdo con Kabat *et al.*, Sequences of proteins of immunological interest, 5.a Ed., Public Health Service, National Institutes de Health, Bethesda, Md. (1991).

[00329] Las variantes construidas durante la humanización de 14H11c se evaluaron en forma de IgG1 humana. Las regiones hipervariables del anticuerpo de conejo, posiciones 24-34 (L1; SEQ ID NO: 10), 50-56 (L2; SEQ ID NO: 11) y 89-97 (L3; SEQ ID NO: 12) en el dominio VL se injertaron en la región de marco KV1D-39*01 humana; y 31-35b (H1; SEQ ID NO: 7), 50-65 (H2; SEQ ID NO: 8) y 95-102 (H3; SEQ ID NO: 9) en el dominio VH se injertaron en la región de marco HV3-53*01 humana. Todas las posiciones de Vernier de VL y VH de anticuerpos de conejo también se injertaron en sus respectivas regiones de marco de línea germinal humana. Lo injertos con todos los aminoácidos de conejo en posiciones de Vernier se denominan L1H1 (hu.14H11c.L1H1; SEQ ID NO: 15 (VH) y 31 (VL)).

[00330] La afinidad de unión de los anticuerpos humanizados se determinó mediante un sistema de SPR BIAcore™ 8K. Para mediciones cinéticas, los anticuerpos se capturaron en un chip de proteína A de grado de investigación (GE Healthcare) para lograr alrededor de 300 RU. Diluciones en serie de 10 veces de KLK7 humana se inyectaron en amortiguador HBS-P a 37 °C con una velocidad de flujo de 100 µl/min. Las velocidades de asociación (ka) y velocidades de disociación (kd) se calcularon usando un modelo de unión Langmuir 1:1 (BIAcore Insight Evaluation Software versión 2.0). La constante de disociación de equilibrio (KD) se calculó como la relación kd/ka.

[00331] La afinidad de unión del anticuerpo hu.14H11c.L1H1 se comparó con la

de su clon parental quimérico. Las posiciones de Vernier de conejo de anticuerpos hu.14H11c.L1H1 se volvieron a convertir en residuos humanos para evaluar la contribución de cada posición de Vernier de conejo con respecto a la afinidad de unión a hKLK7. Tres cadenas livianas adicionales (L2: L1+Ala43 (SEQ ID NO: 32), L3: L1+Phe71 (SEQ ID NO: 33) y L4: L1+Ala43+Phe71 (SEQ ID NO: 34)) y nueve cadenas pesadas adicionales (H2: H1+Val2 (SEQ ID NO: 16), H3: H1+Val48 (SEQ ID NO: 17), H4: H1+Ser49 (SEQ ID NO: 18), H5: H1+Arg71 (SEQ ID NO: 19), H6: H1+Asn73 (SEQ ID NO: 20), H7: H1+Leu78 (SEQ ID NO: 21), H8: H1+Tyr91 (SEQ ID NO: 22), H9: H1+Gln105 (SEQ ID NO: 23), H10: sin residuos de conejo en las posiciones de Vernier (SEQ ID NO: 24)) se crearon. Ver Figuras 1A-1B. Se determinó que Tyr71 en la cadena liviana (L2; SEQ ID NO: 32), y Gln2 y Pro105 en la cadena pesada (H11; SEQ ID NO: 29) eran residuos de Vernier de conejo importantes según la evaluación de afinidad de unión de variantes de anticuerpos descrita anteriormente (datos no mostrados). 14H11c quimérico se unía con una KD de < 1 pM, mientras que hu.14H11c.L2H11 se unía con una KD de 0,4 pM.

Tabla 3. Afinidades del anticuerpo anti-KLK7 humanizado

Ligando	Muestra	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
KLK7 humana	rb.14H11c-hlgG1 quimérico	2,16E+07	<1E-06	<1E-12
	hu.14H11c.L2H11-hlgG1 (VH/VL; SEQ ID NO: 29,32)	3,43E+07	1,22E-05	3,56E-13
	Botón en ojal hu.14H11c.L2H11-hlgG1 de un brazo (VH/VL; SEQ ID NO: 30,38; botón de IgG1 SEQ ID NO: 96 ligado a VH; apareado con ojal IgG1 “simulada” SEQ ID NO: 182)	2,82E+07	2,52E-05	8,94E-13

Ejemplo 3: Optimización de afinidad de anticuerpos anti-KLK5

[00332] A fin de aumentar la afinidad de los anticuerpos anti-KLK5 hu.9H5.L4H14 y hu.10C5.L5H28, se generaron variaciones de mutaciones de punto único en 544 y 576, respectivamente. Los anticuerpos resultantes se cribaron mediante resonancia de plasmones superficiales y se clasificaron en función de las velocidades de disociación. Ver Figura 4 (variantes de hu.10C5.L5H28) y Figura 5 (variantes de hu.9H5.L4H14). Solo cinco mutaciones en hu.10C5.L5H28 produjeron una velocidad de disociación significativamente más lenta. Estas fueron LC.S34K (SEQ ID NO: 54), LC.F92Y (SEQ ID NO: 55), LC.S95F (SEQ ID NO: 56), HC.G33P (SEQ ID NO: 105) y HC.N53V (SEQ ID NO: 52). Ver Figuras 2A-2B. Para hu.9H5.L4H14, se observaron solo cuatro mutaciones con velocidades de disociación más lentas que el anticuerpo de origen: LC.H89V (SEQ ID NO: 88), LC.S95Y (SEQ ID NO: 89), HC.G54A (SEQ ID NO: 81) y HC.G98Q (SEQ ID NO: 82). Ver Figuras 3A-3B.

[00333] Para identificar buenas combinaciones de variantes, se generaron anticuerpos monovalentes de un brazo (OA) con una IgG1 Fc humana con conjuntos individuales y combinados de mutaciones. Las combinaciones buenas se identificaron mediante caracterización por resonancia de plasmones superficiales. Las Tablas 4-7 muestran las propiedades cinéticas de los anticuerpos monovalentes de un brazo (OA).

Tabla 4. Afinidades de variantes de hu.9H5.L4H14 para KLK5 humana

Variante de anticuerpo (todas con Q38E/Q39K)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	VH/VL SEQ ID
OA.hu.9H5.H14L4	1,07E+06	2,72E-04	2,54E-10	84/91
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.H89V	3,79E+06	3,85E-05	1,02E-11	85/92
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.S95Y	9,92E+05	1,60E-05	1,62E-11	85/93
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.H89V.S95Y	6,99E+05	1,37E-05	1,96E-11	85/94
OA.hu.9H5.H14L4.G98Q.H89V	2,40E+06	4,46E-05	1,86E-11	86/92
OA.hu.9H5.H14L4.G98Q.S95Y	7,85E+05	3,94E-05	5,02E-11	86/93
OA.hu.9H5.H14L4.G98Q.H89V.S95Y	2,47E+06	4,91E-05	1,99E-11	86/94
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.G98Q.H89V	8,54E+06	2,97E-06	3,48E-13	87/92
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.G98Q.S95Y	2,73E+06	2,71E-05	9,94E-12	87/93
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.G98Q.H89V	1,98E+06	2,39E-05	1,21E-11	87/94

Tabla 5. Afinidades de variantes de hu9H5.L4H14 para KLK5 de *Macaca fascicularis*

Variante de anticuerpo (todas con Q38E/Q39K)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	VH/VL SEQ ID
OA.hu.9H5.H14L4	1,12E+07	6,97E-04	6,23E-11	84/91
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.H89V	1,24E+07	1,10E-04	8,93E-12	85/92
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.S95Y	4,82E+06	8,44E-05	1,75E-11	85/93
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.H89V.S95Y	4,28E+06	7,36E-05	1,72E-11	85/94
OA.hu.9H5.H14L4.G98Q.H89V	1,48E+07	1,45E-04	9,78E-12	86/92
OA.hu.9H5.H14L4.G98Q.S95Y	4,02E+06	1,45E-04	3,61E-11	86/93
OA.hu.9H5.H14L4.G98Q.H89V.S95Y	4,02E+06	1,33E-04	3,30E-11	86/94
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.G98Q.H89V	2,19E+07	6,52E-05	2,98E-12	87/92
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.G98Q.S95Y	5,97E+06	9,18E-05	1,54E-11	87/93
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.G98Q.H89V.S3,95E+06	5,75E-05	1,46E-11	87/94	

Tabla 6. Afinidades de variantes de hu10C5.L5H28 para KLK5 humana

Variante de anticuerpo (todas, excepto OA.hu.10C5.L5H28.WT y OA.hu.10C5.N53V, con Q38E/Q39K)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (pM)	VH/VL SEQ ID
OA.hu.10C5.L5H28.WT	1,25E+07	1,28E-03	102,417	50/51
OA.hu.10C5.N53V	6,84E+06	9,23E-05	13,497	52/51
OA.hu.10C5.N53V.S34K	3,42E+06	9,88E-06	2,887	53/61
OA.hu.10C5.N53V.F92Y	6,41E+06	2,45E-05	3,817	53/62
OA.hu.10C5.N53V.S95F	5,82E+06	1,51E-05	2,587	53/63
OA.hu.10C5.N53V.S34K.F92Y	3,00E+06	< 1E-06 *	< 0,334	53/64
OA.hu.10C5.N53V.S34K.S95F	4,25E+06	< 1E-06 *	< 0,235	53/65
OA.hu.10C5.N53V.F92Y.S95F	1,01E+07	8,65E-06	0,853	53/66
OA.hu.10C5.N53V.S34K.F92Y.S95F	5,13E+06	1,88E-06	0,367	53/67

Tabla 7. Afinidades de variantes de hu10C5.L5H28 para KLK5 de *Macaca fascicularis*

Variante de anticuerpo (todas, excepto OA.hu.10C5.L5H28.WT y OA.hu.10C5.N53V, con Q38E/Q39K)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (pM)	VH/VL SEQ ID
---	-----------	----------	---------	-----------------

OA.hu.10C5.L5H28.WT	1,14E+07	4,24E-03	371,354	50/51
OA.hu.10C5.N53V	1,46E+07	5,20E-04	35,520	52/51
OA.hu.10C5.N53V.S34K	5,48E+06	8,88E-05	16,218	53/61
OA.hu.10C5.N53V.F92Y	1,82E+07	1,61E-04	8,846	53/62
OA.hu.10C5.N53V.S95F	1,35E+07	1,00E-04	7,444	53/63
OA.hu.10C5.N53V.S34K.F92Y	5,90E+06	3,08E-05	5,220	53/64
OA.hu.10C5.N53V.S34K.S95F	9,41E+06	2,86E-05	3,034	53/65
OA.hu.10C5.N53V.F92Y.S95F	1,52E+07	5,72E-05	3,764	53/66
OA.hu.10C5.N53V.S34K.F92Y.S95F	1,06E+07	2,81E-05	2,646	53/67

[00334] La Figura 6 muestra rastros de resonancia de plasmones superficiales para las variantes de hu.10C5.L5H28 indicadas para KLK5 humana (Figura 6A) y KLK5 de *Macaca fascicularis* (Figura 6B). La Figura 7 muestra rastros de resonancia de plasmones superficiales para las variantes de hu.9H5.L4H14 indicadas para KLK5 humana (Figura 7A) y KLK5 de *Macaca fascicularis* (Figura 7B).

Ejemplo 4: Generación y caracterización de anticuerpos biespecíficos anti-KLK5/KLK7

[00335] A fin de seleccionar buenas combinaciones de variantes de 10C5.L5H28 para aparear con el brazo anti-KLK7 en un anticuerpo biespecífico, se evaluó cada variante para determinar la actividad inhibidora de KLK5, la unión no específica en un ensayo de unión de baculovirus, y la generación de biespecificidad correcta luego de la coexpresión con el brazo anti-KLK7 en una única célula. Cada variante se construyó con las mutaciones descritas previamente para potenciar el correcto apareamiento de cadena en el ensamblaje biespecífico de célula única. Ver Dillon *et al.*, Mabs 9(2): 213-230 (2017). La LC de anti-KLK5 contenía Q38E y V133K, y la HC contenía Q39K y S183E. La LC de anti-KLK7 contenía Q38K y V133E, y la HC contenía Q39E y S183K.

[00336] Todas las variantes de anticuerpo anti-KLK5 de un brazo presentaron potencias similares en el ensayo de inhibición de KLK5, con IC50 que variaban de 1,14 nM a 2,30 nM (datos no mostrados).

[00337] La unión no específica de cada variante de anticuerpo anti-KLK5 se midió en un ELISA usando partículas de baculovirus, sustancialmente como se

describe en Hotzel *et al.*, Mabs 4(6): 753-760 (2012).

[00338] Dos variantes (N53V/S34K y N53V/S34K/F92Y/S95F) se eliminaron de acuerdo con el ensayo de unión de baculovirus debido a su mayor unión no específica, que puede producir propiedades farmacocinéticas deficientes. Ver Tablas 8 y 9.

Tabla 8: ELISA de unión de Baculovirus para variantes de hu10C5.L5H28

Muestra	BV ELISA	VH/VL SEQ ID
hu.10C5.L5H28.WT	0,22	50/51
hu.10C5.N53V	0,38	52/51
hu.10C5.N53V.S34K	1,81	52/54
hu.10C5.N53V.F92Y	0,19	52/55
hu.10C5.N53V.S95F	0,28	52/56
hu.10C5.N53V. S34K.F92Y	0,29	52/57
hu.10C5.N53V. S34K.S95F	0,29	52/58
hu.10C5.N53V.F92Y.S95F	n.d.	52/59
hu.10C5.N53V. S34K.F92Y .S95F	0,46	52/60

Tabla 9: ELISA de unión de Baculovirus para variantes de hu.9H5.L4H14

Variante de xKLK5 (todas con Q38E/Q39K)	BV ELISA	VH/VL SEQ ID
OA.hu.9H5.H14L4	0,02	84/91
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.H89V	0,30	85/92
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.S95Y	0,17	85/93
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.H89V.S95Y	0,34	85/94
OA.hu.9H5.H14L4.G98Q.H89V	0,32	86/92
OA.hu.9H5.H14L4.G98Q.S95Y	0,12	86/93
OA.hu.9H5.H14L4.G98Q.H89V.S95Y	0,33	86/94
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.G98Q.H89V	0,27	87/92
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.G98Q.S95Y	0,12	87/93
OA.hu.9H5.H14L4.G54A.G98Q.H89V.S95Y	0,20	87/94

[00339] Se evaluó la capacidad de cada variante para emparejarse correctamente con el brazo anti-KLK7 luego de la coexpresión en células HEK293.

Como se muestra en la Tabla 10, todas las variantes con LC.S34K presentaron propiedades de ensamblaje deficientes.

Tabla 10. Medición por espectrometría de masa del porcentaje de producción de células biespecíficas correctas sobre célula única.

Clon (hu.10C5 VH/VL; hu.14H11 VH/VL)	Correcta (%)	2xHoleLC (%)	2xKnobLC (%)
hu.10C5VKYF.hu14H11c.L2H11 1:1 (53/67; 30/38)	58,5	0,0	41,5
hu.10C5VK.hu14H11c.L2H11 1:1 (53/61; 30/38)	67,9	1,5	30,6
hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 1:1 (53/62; 30/38)	89,0	0,0	11,0
hu.10C5VF.hu14H11c.L2H11 1:1 (53/63; 30/38)	84,9	1,3	13,8
hu.10C5VKY.hu14H11c.L2H11 1:1 (53/64; 30/38)	63,4	1,9	34,7
hu.10C5VKF.hu14H11c.L2H11 1:1 (53/65; 30/38)	55,3	0,0	44,7

[00340] Con base en las propiedades combinadas, hu.10C5.L5H28.N53V.F92Y con mutaciones Q39K/Q38E (VH, SEQ ID NO: 53; VL, SEQ ID NO: 62) se seleccionó como el brazo anti-KLK5 para emparejarse con el brazo anti-KLK7 de hu14H11c.L2H11 con mutaciones Q39E/Q38K (VH, SEQ ID NO: 30; VL, SEQ ID NO: 38). Se generaron dos versiones del anticuerpo biespecífico con hlgG1 N297G, que tenía función efectora atenuada. Una de las versiones contenía dos mutaciones (M428L/N434S) que se demostró que aumentaban la semivida del anticuerpo *in vivo*. Ver Zalevsky *et al.* Nature Biotech, 2010, 28: 157-9; Ko *et al.* Nature, 2014, 514: 642-5; Gaudinski *et al.* PLOS Medicine, 2018, 15:e1002493.

[00341] Se determinaron las afinidades de los anticuerpos biespecíficos anti-KLK5/KLK7, con y sin las mutaciones M428L/N434S (“LS”), para KLK5 y KLK7 humanas y de *Macaca fascicularis*.

Tabla 11. Afinidad de anticuerpos biespecíficos por KLK5 humana y de *Macaca fascicularis*.

	KLK5 humana			KLK5 de <i>Macaca fascicularis</i>		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (pM)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (pM)
hu.10C5VY.hu14H11 c.L2H11 WT (SEQ ID NO: 108/109 y 110/111)	(2,1±0,9)E+7	(1,5±0,6)E-5	0,8±0,2	(1,0±0,2)E+7	(1,9±0,1)E-4	19±1
hu.10C5VY.hu14H11 c.L2H11 LS (SEQ ID NO: 112/113 y 114/115)	(1,5±0,7)E+7	(1,97±0,09)E-5	1,5±0,6	(1,11±0,03)E+7	(1,8±0,5)E-4	16±4

Tabla 12. Afinidad de anticuerpos biespecíficos por KLK7 humana y de *Macaca fascicularis*.

	KLK7 humana			KLK7 de <i>Macaca fascicularis</i>		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (pM)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (pM)
hu.10C5VY.hu14H11 c.L2H11 WT (SEQ ID NO: 108/109 y 110/111)	(5,8±0,1) E+7	< 1E-6	<1	(4±1) E+7	(9±5)E-5	2,3±0,6
hu.10C5VY.hu14H11 c.L2H11 LS (SEQ ID NO: 112/113 y 114/115)	(5,7±0,5) E+7	(1,4±0,1)E-5	0,24±0,9	(3±1)E+7	(7±3)E-5	3±2

[00342] La actividad de los anticuerpos biespecíficos se evaluó usando ensayos funcionales directos de KLK7 y KLK5, sustancialmente como se describe en el Ejemplo 1. En los ensayos funcionales de KLK5, el ensayo en el Ejemplo 1 se modificó para usar KLK5 humana o de *Macaca fascicularis* (SEQ ID NO: 2 y 101, respectivamente) en lugar de KLK7, y sustrato Boc-Val-Pro-Arg-AMC (Bachem I-1120, 31,3 mM de solución de reserva en agua) en una concentración final de 50 µM. 200 nM de SPINK9.SRE.Fc (SEQ ID NO: 197; Genentech; ver, por ejemplo, Brannstrom *et*

al., 2012, *Biol. Chem.* 393: 369-377) se usaron como 0 % de actividad de control. Los resultados se muestran en las Tablas 13 y 14.

Tabla 13: IC50 para los anticuerpos biespecíficos anti-KLK5/KLK7 y anticuerpos monoespecíficos de origen frente a KLK5 y KLK7 humana, bivalencia corregida en IC50 (AMC = Boc-Val-Pro-Arg-AMC; MCA = Mca-RPKPVE-Nval-WRK(Dnp))

Anticuerpo	IC50 (nM)		
	KLK5 AMC	KLK7 MCA	
hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 WT (SEQ ID NO: 108/109 y 110/111)	0,67± 0,06	0,37±0,08	
hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 LS (SEQ ID NO: 112/113 y 114/115)	0,54±0,04	0,34±0,07	
hu14H11c.L2H11 (SEQ ID NO: 29/32)	>10	0,29±0,06	
hu10C5VY (SEQ ID NO: 52/55)	0,46±0,04	>10	

Tabla 14: IC50 para los anticuerpos biespecíficos anti-KLK5/KLK7 y anticuerpos monoespecíficos de origen frente a KLK5 y KLK7 de *Macaca fascicularis*, bivalencia corregida en IC50 (AMC = Boc-Val-Pro-Arg-AMC; MCA = Mca-RPKPVE-Nval-WRK(Dnp))

Anticuerpo	IC50 (nM)		
	KLK5 AMC	KLK7 MCA	
hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 WT (SEQ ID NO: 108/109 y 110/111)	0,73 ±0,04	0,37 ±0,05	
hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 LS (SEQ ID NO: 112/113 y 114/115)	0,58 ±0,02	0,36 ±0,05	
hu14H11c.L2H11 (SEQ ID NO: 29/32)	>10	0,29 ±0,06	
hu10C5VY (SEQ ID NO: 52/55)	0,56 ±0,03	>10	

Ejemplo 5: Expresión de KLK5 y KLK7 en dermatitis atópica, rosácea y psoriasis

[00343] Se usó inmunoquímica para determinar la expresión de KLK5 en muestras humanas de rosácea y dermatitis atópica. Como se muestra en la Figura 8,

la proteína KLK5 presenta un nivel elevado en rosácea y dermatitis atópica humanas, en comparación con piel normal.

[00344] A fin de determinar si KLK7 también se expresa en condiciones de dermatitis humana, se usó una sonda de ARN antisentido para la hibridación *in situ* para visualizar la expresión de KLK5 y KLK7. La Figura 9 muestra tinción de mRNA de KLK7 representativa en dermatitis atópica, rosácea y psoriasis, en comparación con piel normal. La Figura 10 muestra que mRNA de KLK5 (10A) y KLK7 (10B) presentan expresión anatómica similar en piel humana, y que ambos se regulan de manera ascendente en dermatitis atópica, rosácea y psoriasis. El aumento en la expresión de SPINK5 no fue significativo en dermatitis atópica o rosácea, pero fue significativo en psoriasis. Los datos en la Figura 10 muestran la cuantificación a doble ciego realizada por un patólogo.

Ejemplo 6: La inyección intradérmica de KLK5 o KLK7 incrementa la pérdida de agua transepidérmica

[00345] Para evaluar si KLK5 o KLK7 promueven directamente la desregulación de la barrera epitelial y aumentan la pérdida de agua transepidérmica, 2 µg de KLK5 o KLK7 recombinantes se inyectaron por vía intradérmica en la piel dorsal de ratones Balb/c.

[00346] Como se muestra en la Figura 11, 6 horas después de la inyección, los animales inyectados con KLK5 y KLK7 presentaron un aumento en la pérdida de agua transepidérmica, según se midió por medio de un Vapometer portátil para piel (Delfin technologies). Estos datos sugerían que KLK5 y KLK7 podían promover una mayor permeabilidad epitelial.

Ejemplo 7: La inhibición de KLK5 y KLK7 mejora la dermatitis inflamatoria murina

[00347] Se generaron anticuerpos inhibidores anti-KLK5 murina y anti-KLK7 murina sustitutos para evaluar la eficacia terapéutica en la inhibición de KLK5 y KLK7 en dermatitis atópica murina. Se indujo la dermatitis atópica murina mediante tratamiento tópico con SDS y proteína A de *Staphylococcus aureus*. Luego, los ratones con dermatitis inflamatoria recibieron una inyección intraperitoneal de 250 µg de control de isotipo (anti-gp120), anticuerpo anti-KLK5 murina, anticuerpo anti-KLK7 murina, o una combinación de anticuerpos anti-KLK5 y anti-KLK7. La proteína de fusión SPINK5-Fc murina se usó como un inhibidor no específico para múltiples KLK

(que incluyen KLK5, KLK7 y KLK14).

[00348] Como se muestra en la Figura 12, mientras que la inhibición de KLK5 o KLK7 solas proporcionó protección moderada según el puntaje de dermatitis clínico diario (12A), puntaje de dermatitis atópica terminal total (12B) y puntaje de piel según AUC (12C), la coinhibición de KLK5 y KLK7 proporcionó una eficacia terapéutica superior, similar a SPINK5-Fc. Dado que SPINK5 inhibe otras KLK además de KLK5 y KLK7, estos datos sugirieron que la inhibición de KLK5 y KLK7 era suficiente para la eficacia terapéutica.

[00349] La dermatitis atópica inflamatoria está asociada a la infiltración de linfocitos T y a la producción de IL-13. La neutralización de IL-13 mejora la dermatitis atópica en modelos animales murinos y pacientes humanos con dermatitis atópica. En un segundo experimento, un anticuerpo anti-IL-13 se usó control positivo en el modelo de dermatitis atópica con proteína A de *S. aureus* en SDS. Como se muestra en la Figura 13, la combinación de anticuerpos anti-KLK5 y anti-KLK7 redujo el puntaje de AD terminal total, redujo la pérdida de agua transepidérmica (TEWL) y redujo el puntaje histológico de gravedad de la enfermedad, hasta un nivel similar que el anticuerpo anti-IL-13. La Figura 14 muestra tinción con hematoxilina y eosina representativa, lo que demuestra que los anticuerpos anti-KLK5 y KLK7 combinados redujeron la inflamación dérmica y paraqueratosis hasta un nivel similar que el anticuerpo anti-IL-13.

[00350] En conjunto, estos resultados sugirieron una función redundante para KLK5 y KLK7 en la promoción de la permeabilidad de la barrera epitelial. Por lo tanto, se esperaba que la inhibición combinada de KLK5 y KLK7 produjera una mejora en el puntaje clínico de dermatitis, la función de barrera de la piel y la manifestación histopatológica, en comparación con la inhibición de KLK5 o KLK7 solas.

Ejemplo 8: La erupción cutánea y descamación en ratones con deficiencia de Spink5 mejora con tratamiento con anticuerpo biespecífico anti-mKLK5/mKLK7 o tratamiento conjunto con anticuerpo anti-mKLK5 / anticuerpo anti-mKLK7

[00351] Los ratones Spink5 f/f Cre-ERT2+ s recibieron inyecciones por vía intraperitoneal con 16 mg/kg, 8 mg/kg o 4 mg/kg de tamoxifeno para eliminar el gen Spink5. Un día antes del tratamiento con tamoxifeno, anticuerpo anti-KLK5 murina (2,5 mg por ratón) y anticuerpo anti-KLK7 murina (0,5 mg por ratón) o un anticuerpo de control de isotipo (2,5 mg por ratón). Se usó un exceso de anticuerpo anti-mKLK5 en comparación con el anticuerpo anti-mKLK7, porque se determinó que el anticuerpo

anti-mKLK5 es 100 veces menos potente que el anticuerpo anti-mKLK7, con un IC₅₀ de 4,78 nM en comparación con un IC₅₀ de 0,48 nM para el anticuerpo anti-mKLK7. La piel del lomo se analizó 6 días después de la inyección de tamoxifeno. Los ratones Spink5 f/f Cre-ERT2-negativo también se trataron con 16 mg/kg de tamoxifeno como control.

[00352] La piel del lomo de los ratones 6 días después de la infección se muestra en las Figuras 16A-16D. La piel de los ratones con deficiencia de Spink5 tratados con un control de isotipo se tornó seca, escamosa, inflamada y enrojecida. Estos síntomas exteriores similares al síndrome Netherton mejoraron considerablemente al administrar una inyección combinada de anticuerpo anti-mKLK5 y anticuerpo anti-mKLK7 en una dosis de tamoxifeno diferente.

[00353] La piel del lomo de los ratones se homogeneizó en solución salina amortiguada con fosfato para producir lisados de piel. Los lisados se analizaron para determinar los niveles de citocina mediante el uso de inmunoensayos Bio-Plex Multiplex (BioRad).

[00354] Los resultados de los ensayos de citocina se muestran en las Figuras 17A-17E. Los niveles de citocinas IL-8 (17A), TNF- α (17B), IL-6 (17C), IL-4 (17D) y G-CSF (17E) se redujeron mediante tratamiento con anticuerpo biespecífico anti-mKLK5/mKLK7 en comparación con un tratamiento con anticuerpo de control de isotipo.

[00355] La Figura 18 muestra secciones transversales representativas de piel teñida con hematoxilina y eosina de ratones con deficiencia de Spink5 tratados con 16 mg/kg de tamoxifeno y anticuerpo de control de isotipo o anticuerpo anti-mKLK5 /anticuerpo anti-mKLK7 combinados. Mientras que la piel de ratones con deficiencia de Spink5 tratados con anticuerpo de control de isotipo muestra infiltración de leucocitos significativa, engrosamiento de las capas de la epidermis y descamación de la epidermis, un bloqueo combinado de mKLK5 y mKLK7 redujo significativamente la manifestación patológica.

Ejemplo 9: El anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7 inhibe la permeabilidad epitelial inducida por KLK5- y KLK7

[00356] Los queratinocitos epidérmicos humanos se sembraron en una placa transcaudad para cultivo tisular recubierta con colágeno y diferenciada con 1,5 mM de CaCl₂ durante 2 días. Después de la diferenciación, CaCl₂ se redujo hasta 0,1 mM. El lado apical superior de la monocapa se trató con KLK5 (5 μ g/ml), KLK7 (5 μ g/ml),

KLK5+KLK7 (5µg/ml cada uno) o KLK5+KLK7 (5 µg/ml cada uno) + 100 µg/ml de anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7 (hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 LS) durante 72 h o 96 h. La resistencia eléctrica transepitelial (TEER) se midió con un metro volt/ohm en cada punto temporal.

[00357] Los resultados se muestran en las Figuras 22A-22B. La adición de KLK5, KLK7 o KLK5/KLK7 recombinantes juntos indujo la permeabilidad epitelial cuantificada mediante resistencia eléctrica transepitelial. El anticuerpo biespecífico anti-KLK5/KLK7 redujo significativamente la permeabilidad epitelial inducida por KLK5 y KLK7.

Ejemplo 10: Determinación estructural del anticuerpo anti-KLK7 14H11c unido a KLK7

[00358] Los residuos de KLK7 recombinante I30-R253 (SEQ ID NO: 4) se expresaron en un sistema de expresión de mamífero (células CHO), con una etiqueta His en el terminal N, seguido de un sitio de escisión de enteroquinasa modificado por ingeniería genética con la etiqueta His y KLK7. Las células CHO se coexpresaron con EndoH con 1 mg/ml de Kifunensina. La media de expresión se cosechó y se purificó con Ni-NTA como la primera etapa. La proteína eluida de la columna Ni-NTA se purificó adicionalmente en una columna Superdex 200 (S200) de exclusión por tamaño. La etiqueta His en KLK7 se eliminó mediante tratamiento con enteroquinasa durante la noche, y KLK7 se purificó adicionalmente en una columna de intercambio de cationes SP HP con 25 mM de Hepes, pH 7,8 y un gradiente de 0-800 mM de NaCl.

[00359] Los fragmentos de Fab que incluyen cadenas pesadas y livianas de anticuerpo anti-KLK7 rb.14H11c se expresaron en células HEK293. Se agregó una etiqueta His en el terminal C de la cadena pesada para facilitar la purificación mediante el uso de una resina de Ni-NTA, seguido de una cromatografía de exclusión por tamaño en PBS. Las secuencias de la cadena pesada y liviana se muestran en las SEQ ID NO: 198 y 199, respectivamente. A los fines de este ejemplo, las secuencias fueron numeradas comenzando con la secuencia de señal. La numeración de la cadena pesada de Fab que se muestra en SEQ ID NO: 198 comienza, por lo tanto, con 20 (aminoácidos 20-256), y la numeración de la cadena liviana de Fab que se muestra en SEQ ID NO: 199 comienza, por lo tanto, con 23 (aminoácidos 23-237).

[00360] KLK7 se mezcló con el Fab 14H11c, en una relación molar de 1:1.5 KLK7:Fab, y el complejo se purificó mediante cromatografía de exclusión por tamaño en 25 mM de HEPES pH 7,8, 150 mM de NaCl. El pico que contenía el complejo

KLK7:Fab se metiló sobre las lisinas (*Methods in Structure*, 2006, 14, 1617-1622) y se purificó adicionalmente en una columna S200 usando 25 mM de TRIS pH 7,8 y 150 mM de NaCl. El complejo se concentró hasta obtener 10 mg/ml, y los cristales se cultivaron mediante gotas colgantes con 1 µl de proteína y 1 µl de 10 % de PEG 4K y sulfato de amonio 0,2 M. Los cristales aparecieron 3 días después y maduraron durante 2-3 días adicionales. Luego los cristales se cosecharon para la recolección de datos.

[00361] Se recolectaron los datos de la difracción de rayos X en condiciones de criopreservación a 100 grados Kelvin usando distinta radiación de rayos X en sincrotrón en el Advanced Light Source (Berkeley, CA) de acuerdo con métodos estándares. Las imágenes de difracción se procesaron y se redujeron mediante el uso de software de procesamiento de datos XDS (Kabsch, W. *XDS. Acta Cryst. D***66**, 125-132 (2010)). Los modelos se generaron usando la técnica de reemplazo molecular con el programa PHASER. La estructura de KLK7 humana (*Proc Natl Acad Sci U S A* **104**: 16086-16091 (2007)) y el modelo de anticuerpo Fab se usaron como modelos de búsqueda. Las estructuras se sometieron a rondas iterativas de ajustes de modelos mediante el programa COOT y a refinamiento mediante PHENIX. Los modelos se refinaron según valores aceptables de R y R libre y estadísticas de Ramachandran (calculado por Molprobity). La numeración de residuos de aminoácidos para KLK7 se basó en el sistema de numeración de quimotripsina (*Proc Natl Acad Sci U S A* **104**: 16086-16091 (2007) para KLK7, código de PDB 2QXI para referencia; también denominado “numeración de proteasa estándar”).

[00362] La estructura del Fab 14H11c unido a KLK7 humana se muestra en las Figuras 20A-20B. El Fab completo unido a KLK7 se muestra en la Figura 20A, con una superposición de KLK7 sola. La Figura 20B muestra la interfaz KLK7-Fab.

[00363] La Tabla 15 enumera los aminoácidos de la cadena pesada de 14H11c y los aminoácidos de KLK7 que participaron en la interfase de Fab-KLK7.

Tabla 15: Residuos de interfase entre la cadena pesada de 14H11c y KLK7

Residuos de interfase en la cadena pesada de 14H11c	Residuos de interfase en KLK7 (sistema de numeración de quimotripsina)	Residuos de interfase en KLK7 (numeración secuencial de SEQ ID NO: 4)
---	--	---

Ser 49	His 91	His 72
Ser 50	Ser 95	Ser 76
Tyr 51	Thr 96	Thr 77
Tyr 52	Gln 97	Gln 78
Tyr 71	Thr 98	Thr79
Ser 74	Val 100	Val 81
Ser 75	Asn 101	Asn 82
Ala 77	Lys 173	Lys152
Tyr 79	Leu 175	Leu154
Phe 120	Leu 176	Leu155
Glu 122	Glu 177	Glu156
Thr 123	Asn 178	Asn 157
Gly 124	Ser 179	Ser 158
Gly 125	Gln 230	Gln 209
Tyr 126	Cys 232	Cys 210
Gly 127	Lys 233	Lys 211
Tyr 128	Phe 234	Phe 212
	Thr 235	Thr213
	Lys 236	Lys 214
	Trp 237	Trp 215
	Asp 240	Asp 218

[00364] La Tabla 16 enumera los aminoácidos de la cadena liviana de 14H11c y los aminoácidos de KLK7 que participaron en la interfase de Fab-KLK7.

Tabla 16: Residuos de interfase entre la cadena liviana de 14H11c y KLK7

Residuos de interfase en la cadena liviana de 14H11c	Residuos de interfase en KLK7 (sistema de numeración de quimotripsina)	Residuos de interfase en KLK7 (numeración secuencial de SEQ ID NO: 4)
Glu 49	Arg 90	Arg71
Asp 50	His 91	His 72
Ile 51	Pro 92	Pro73
Ala 52	Gly 93	Gly 74
Tyr 114	Tyr 94	Tyr 75
Tyr 116	Ser 95	Ser 76
Ser 117	Thr 96	Thr 77
Ser 118	Gln 97	Gln 78
Thr 119	Val 100	Val 81
	Asn 101	Asn 82
	Trp 237	Trp 215
	Thr 241	Thr 219
	Lys 244	Lys 222

[00365] La Tabla 17 enumera los aminoácidos de la cadena pesada de 14H11c y los aminoácidos de KLK7 que forman enlaces de hidrógeno en la estructura, y la Tabla 18 enumera los aminoácidos de la cadena pesada de 14H11c y los aminoácidos de KLK7 que forman puentes de sal.

Tabla 17: Enlaces de hidrógeno entre la cadena pesada de 14H11c y KLK7

Residuo de la cadena pesada	Longitud del puente (Angstrom)	Residuo de KLK7 (sistema de numeración)	Residuo de KLK7 (numeración secuencial de)
-----------------------------	--------------------------------	---	--

		de quimotripsina)	SEQ ID NO: 4)
Tyr 52 [OH]	2,8	Ser 95 [OG]	Ser76 [OG]
Ser 95 [O]	3,8	Gln 97 [NE2]	Gln 78 [NE2]
Gly 125 [O]	3,1	Thr 235 [N]	Thr 213 [N]
Gly 125 [O]	3,9	Thr 235 [OG1]	Thr 213 [OG1]
Tyr 128 [O]	3,7	Asn 101 [ND2]	Asn 82 [ND2]
Tyr 52 [OH]	3,0	Gln 97 [OE1]	Gln 78 [OE1]
Ala 77 [N]	3,7	Gln 97 [OE1]	Gln 78 [OE1]
Tyr 79 [OH]	2,8	Gln 97 [OE1]	Gln 78 [OE1]
Tyr 126 [N]	3,2	Lys 233 [O]	Lys 211 [O]
Gly 127 [N]	2,9	Lys 233 [O]	Lys 211 [O]
Tyr 128 [N]	2,9	Asn 101 [OD1]	Asn 82 [OD1]
Tyr 128 [OH]	2,9	Asn 178 [OD1]	Asn157 [OD1]

Tabla 18: Puentes de sal entre la cadena pesada de 14H11c y KLK7

Residuo de la cadena pesada	Longitud del puente (Angstrom)	Residuo de KLK7 (sistema de numeración de quimotripsina)	Residuo de KLK7 (numeración secuencial de SEQ ID NO: 4)
Glu 122 [OE1]	3,2	Lys 233 [NZ]	Lys 211 [NZ]
Glu 122 [OE2]	3,8	Lys 233 [NZ]	Lys 211 [NZ]

[00366] La Tabla 19 enumera los aminoácidos de la cadena pesada de 14H11c

y los aminoácidos de KLK7 que forman enlaces de hidrógeno en la estructura.

Tabla 19: Enlaces de hidrógeno entre la cadena pesada de 14H11c y KLK7

Residuo de la cadena liviana	Longitud del puente (Angstrom)	Residuo de KLK7 (sistema de numeración de quimotripsina)	Residuo de KLK7 (numeración secuencial de SEQ ID NO: 4)
Tyr 114 [OH]	2,9	His 91 [NE2]	His72 [NE2]
Tyr 116 [OH]	3,1	Gly 93 [O]	Gly74 [O]
Ser 117 [OG]	2,9	Pro 92 [O]	Pro73 [O]
Thr 119 [OG1]	2,7	Pro 92 [O]	Pro73 [O]

[00367] En función de la estructura del cristal, el anticuerpo anti-KLK7 rb.14H11c se une a un epítipo discontinuo de KLK7, con una interfase que comprende las regiones R71-N82, K152-S158 y Q211-K222 de KLK7 (SEQ ID NO: 4). rb.14H11c forma enlaces de hidrógeno y/o puentes de sal con los aminoácidos H72, P73, G74, S76, Q78, N82, N157, K211 y T213 de KLK7, según se numeró de acuerdo con SEQ ID NO: 4 (H91, P92, G93, S95, Q97, N101, N178, K233 y T235, mediante numeración de quimotripsina).

[00368] Como se muestra en la Figura 20C, la unión del Fab 14H11c al bucle 170s de KLK7 (numeración de quimotripsina) da como resultado cambios conformacionales coordinados en el bucle 170s, en donde la mayoría de los cambios significativos están en las conformaciones de L176 (L155 en SEQ ID NO: 4) y D174 (D153 en SEQ ID NO: 4). L176, que es un núcleo hidrófobo de KLK7 en el estado nativo, enfrenta al Fab (y se estabiliza mediante interacciones con Fab). Debido al choque estérico con el Fab, D174 se mueve hacia la región más cercana a la región de unión al sustrato, lo que resulta en el movimiento de Y172 (Y151 en SEQ ID NO: 4) y W215 (W192 en SEQ ID NO: 4), que chocan contra el bucle 180s, lo que resultan en el despliegue tanto del bucle 180s como del bucle 220s y en una restricción del sitio de unión al sustrato. Se cree que estos cambios conformacionales dan como resultado la inactivación de la enzima KLK7.

[00369] Si bien la invención anterior se describió con cierto detalle mediante ilustraciones y ejemplos para mayor claridad, las descripciones y ejemplos no se deberían interpretar como limitativos del alcance de la invención. Las divulgaciones de todas las patentes y literatura científica citadas en la presente se incorporan

expresamente en su totalidad por referencia.

IV. Tabla con algunas secuencias

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
1	Secuencia de aminoácidos de KLK5 humana (UniProtKB/Swiss-Prot: Q9Y337.3)	MATARPPWMW VLCALITALL LGVTEHVLAN NDVSCDHPSN TVPSGSNQDL GAGAGEDARS DDSSSRIING SDCDMHTQPW QAALLLRPNQ LYCGAVLVHP QWLLTAAHCR KKVFRVRLGH YSLSPVYESG QQMFQGVKSI PHPGYSHPGH SNDLMLIKLN RRIRPTKDVR PINVSSHCPs AGTKCLVSGW GTTKSPQVHF PKVLQCLNIS VLSQKRCEDA YPRQIDDTMF CAGDKAGRDS CQGDSGGPVV CNGSLQGLVS WGDYPCARP N RPVYTNLCK FTKWIQETIQ ANS
2	Secuencia de aminoácidos de KLK5 madura humana (aminoácidos 67-293 de UniProtKB/Swiss-Prot: Q9Y337.3; señal es 1-22, propéptido es 23-66)	IINGSD CDMHTQPWQA ALLLRPNQLY CGAVLVHPQW LLTAAHCRKK VFRVRLGHYS LSPVYESGQQ MFQGVKSIPH PGYSHPGHSN DLMLIKLNRR IRPTKDVRPI NVSSHCPsAG TKCLVSGWGT TKSPQVHFPK VLQCLNISVL SQKRCEDAYP RQIDDTMFCA GDKAGRDSQ GDSGGPVVCN GSLQGLVSWG DYPCARP NRP GVYTNLCKFT KWIQETIQAN S
100	Secuencia de aminoácidos KLK5 de <i>Macaca fascicularis</i> (UniProtKB: A0A2K5W0T6)	MATARTPWMW VLCALITALL LGVTEHVLAN DDVSCDNPSN TVPSGSNRDV GAGDDARSDD SSSRIINGSD CDEHTQPWQA ALLLGNQLY CGGVLVHPQW LLTAAHCRKK VFRVRLGHYS LSPVYESGQQ MFQGIKSIPH PGYSHPGHSN DLMLIKLNRR IHSTKDVRPI NVSSHCPsAG TKCLVSGWGT TRSPQVHFPK VLQCLNISVL SQKRCEDAYP RQIDDTMFCA GDEAGRDSQ GDSGGPVVCN GSLQGLVSWG DYPCAKPNRP GVYTNLCKFT KWIQETIQAN S
101	Secuencia de aminoácidos de KLK5 madura de <i>Macaca fascicularis</i> (aminoácidos 1-22 de UniProtKB: A0A2K5W0T6; señal es [omisión en texto fuente], propéptido es 23-64)	IINGSDCDEH TQPWQAALLL GPNQLYCGGV LVHPQWLLTA AHCRRKVFRV RLGHYSLSPV YESGQQMFQG IKSIPHPGYS HPGHSNDLML IKLNRRIHST KDVRPINVSS HCPSAGTKCL VSGWGTTRSP QVHFPKVLQC LNISVLSQKR CEDAYPRQID DTMFCAGDEA GRDSCQGD SG GPVVCNGLSQ GLVSWG DYPC AKPNRPGVYT NLCKFTKWIQ ETIQANS

3	Secuencia de aminoácidos de KLK7 humana (UniProtKB/Swiss-Prot: P49862.1)	MARSLLLPLQ ILLLSLALET AGEEAQGDKI IDGAPCARGS HPWQVALLSG NQLHCGGVLV NERWVLTA AH CKMNEYTVHL GS DTLGDRRA QRIKASKSFR HPGYSTQTHV NDLMLVKLNS QARLSSMVKK VRLPSRCEPP GTTCTVSGWG TTTSPDVTFP SDLMCVDVKL ISPQDCTKVY KD LLENSMLC AGIPDSKKNA CNGDSGGPLV CRGTLQGLVS WGT FPCGQPN DPGVYTQVCK FTKWINDTMK KHR
4	Secuencia de aminoácidos de KLK7 madura humana (aminoácidos 30-253 de UniProtKB/Swiss-Prot: P49862.1; señal es 1-22, propéptido es 23-29)	IIDGAPCARG SHPWQVALLS GNQLHCGGVL VNERWVLTA HCKMNEYTVH LGSDTLGDRR AQRIKASKSF RHPGYSTQTH VNDLMLVKLN SQARLSSMVK KVR LPSRCEP PGTTCTVSGW GTTTSPDVTF PSDLMCVDVK LISPQDCTKV YKD LLENSML CAGIPDSKKN ACNGDSGGPL VCRGTLQGLV SWGT FPCGQP NDPGVYTQVC KFTKWINDTM KKHR
5	Secuencia de aminoácidos KLK7 de <i>Macaca fascicularis</i> (UniProtKB: G7PYG2)	MAGSLLLPLQ ILLLSLALGT AGQEAQGDKI IDGAPCTRGS HPWQVALLSG NQLHCGGVLV NERWVLTA AH CKMNDYTVHL GS DTLGDRKA QRIKASRSFR HPGYSTQTHV NDLMLVKLNS PARLSSTVKK VRLPSRCEPP GTTCTVSGWG TTTSPDVTFP SDLMCVDVKL ISSQDCTKVY KDMLGNSMLC AGIPNSKKNA CNGDSGGPLV CRGTLQGLVS WGT FPCGQPN DPGVYTQVCK FTKWINDTIK KHR
6	Secuencia de aminoácidos de KLK7 madura de <i>Macaca fascicularis</i> (aminoácidos 30-253 de UniProtKB: G7PYG2; señal es 1-21, propéptido es 22-29)	I IDGAPCTRGS HPWQVALLSG NQLHCGGVLV NERWVLTA AH CKMNDYTVHL GS DTLGDRKA QRIKASRSFR HPGYSTQTHV NDLMLVKLNS PARLSSTVKK VRLPSRCEPP GTTCTVSGWG TTTSPDVTFP SDLMCVDVKL ISSQDCTKVY KDMLGNSMLC AGIPNSKKNA CNGDSGGPLV CRGTLQGLVS WGT FPCGQPN DPGVYTQVCK FTKWINDTIK KHR
7	rb.14H11c CDRH1 hu.14H11c.V3-53*1.H1 CDRH1 hu.14H11c.V3-53*1.H2 CDRH1 hu.14H11c.V3-53*1.H3 CDRH1 hu.14H11c.V3-53*1.H4 CDRH1 hu.14H11c.V3-53*1.H5 CDRH1 hu.14H11c.V3-53*1.H6 CDRH1 hu.14H11c.V3-53*1.H7 CDRH1	SSYYMS

	hu.14H11c.V3-53*1.H8 CDRH1 hu.14H11c.V3-53*1.H9 CDRH1 hu.14H11c.V3-53*1.H10 CDRH1 hu.14H11c.V3-53*4.H1 CDRH1 hu.14H11c.V3-23.H1 CDRH1 hu.14H11c.V3-33*2.H1 CDRH1 hu.14H11c.V3-21.H1 CDRH1 hu.14H11c-H11 CDRH1 hu.14H11c-H11.Q39E CDRH1	
8	rb.14H11c CDRH2 hu.14H11c.V3-53*1.H1 CDRH2 hu.14H11c.V3-53*1.H2 CDRH2 hu.14H11c.V3-53*1.H3 CDRH2 hu.14H11c.V3-53*1.H4 CDRH2 hu.14H11c.V3-53*1.H5 CDRH2 hu.14H11c.V3-53*1.H6 CDRH2 hu.14H11c.V3-53*1.H7 CDRH2 hu.14H11c.V3-53*1.H8 CDRH2 hu.14H11c.V3-53*1.H9 CDRH2 hu.14H11c.V3-53*1.H10 CDRH2 hu.14H11c.V3-53*4.H1 CDRH2 hu.14H11c.V3-23.H1 CDRH2 hu.14H11c.V3-33*2.H1 CDRH2 hu.14H11c.V3-21.H1 CDRH2 hu.14H11c-H11 CDRH2 hu.14H11c-H11.Q39E CDRH2	SIYAGSSGAPYYAGWAKG
9	rb.14H11c CDRH3 hu.14H11c.V3-53*1.H1 CDRH3 hu.14H11c.V3-53*1.H2 CDRH3 hu.14H11c.V3-53*1.H3 CDRH3 hu.14H11c.V3-53*1.H4 CDRH3 hu.14H11c.V3-53*1.H5 CDRH3 hu.14H11c.V3-53*1.H6 CDRH3 hu.14H11c.V3-53*1.H7 CDRH3 hu.14H11c.V3-53*1.H8 CDRH3 hu.14H11c.V3-53*1.H9 CDRH3 hu.14H11c.V3-53*1.H10 CDRH3 hu.14H11c.V3-53*4.H1 CDRH3 hu.14H11c.V3-23.H1 CDRH3 hu.14H11c.V3-33*2.H1 CDRH3 hu.14H11c.V3-21.H1 CDRH3 hu.14H11c-H11 CDRH3 hu.14H11c-H11.Q39E CDRH3	EGFAETGGYGAAAYFNL

10	rb.14H11c CDRL1 hu.14H11c.K1-39.L1 CDRL1 hu.14H11c.K1-39.L2 CDRL1 hu.14H11c.K1-39.L3 CDRL1 hu.14H11c.K1-39.L4 CDRL1 hu.14H11c.K1-5.L1 CDRL1 hu.14H11c.K1-8.L1 CDRL1 hu.14H11c.K1-6.L1 CDRL1 hu.14H11c-L2.Q38K CDRL1	LASEDIASSVS
11	rb.14H11c CDRL2 hu.14H11c.K1-39.L1 CDRL2 hu.14H11c.K1-39.L2 CDRL2 hu.14H11c.K1-39.L3 CDRL2 hu.14H11c.K1-39.L4 CDRL2 hu.14H11c.K1-5.L1 CDRL2 hu.14H11c.K1-8.L1 CDRL2 hu.14H11c.K1-6.L1 CDRL2 hu.14H11c-L2.Q38K CDRL2	GASNLES
12	rb.14H11c CDRL3 hu.14H11c.K1-39.L1 CDRL3 hu.14H11c.K1-39.L2 CDRL3 hu.14H11c.K1-39.L3 CDRL3 hu.14H11c.K1-39.L4 CDRL3 hu.14H11c.K1-5.L1 CDRL3 hu.14H11c.K1-8.L1 CDRL3 hu.14H11c.K1-6.L1 CDRL3 hu.14H11c-L2.Q38K CDRL3	LGGYSYSTGTA
122	rb.14H11c VH FR1	QSLEESGGDLVKPGASLTLTCTASGFSFS
123	hu.14H11c.V3-53*1.H1 VH FR1 hu.14H11c.V3-53*1.H3 VH FR1 hu.14H11c.V3-53*1.H4 VH FR1 hu.14H11c.V3-53*1.H5 VH FR1 hu.14H11c.V3-53*1.H6 VH FR1 hu.14H11c.V3-53*1.H7 VH FR1 hu.14H11c.V3-53*1.H8 VH FR1 hu.14H11c.V3-53*1.H9 VH FR1 hu.14H11c-H11 VH FR1 hu.14H11c-H11.Q39E VH FR1	EQQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFSFS
124	hu.14H11c.V3-53*1.H2 VH FR1 hu.14H11c.V3-53*1.H10 VH FR1	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFSFS
125	hu.14H11c.V3-53*4.H1 VH FR1	EQQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFS
126	hu.14H11c.V3-23.H1 VH FR1	EQQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFS

127	hu.14H11c.V3-33*2.H1 VH FR1	EQQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFS
128	hu.14H11c.V3-21.H1 VH FR1	EQQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFSFS
129	rb.14H11c VH FR2 hu.14H11c.V3-53*1.H1 VH FR2 hu.14H11c.V3-53*1.H2 VH FR2 hu.14H11c.V3-53*1.H5 VH FR2 hu.14H11c.V3-53*1.H6 VH FR2 hu.14H11c.V3-53*1.H7 VH FR2 hu.14H11c.V3-53*1.H8 VH FR2 hu.14H11c.V3-53*1.H9 VH FR2 hu.14H11c.V3-53*4.H1 VH FR2 hu.14H11c.V3-23.H1 VH FR2 hu.14H11c.V3-33*2.H1 VH FR2 hu.14H11c.V3-21.H1 VH FR2	WVRQAPGKGGLEWIA
130	hu.14H11c.V3-53*1.H3 VH FR2	WVRQAPGKGGLEWVA
131	hu.14H11c.V3-53*1.H4 VH FR2	WVRQAPGKGGLEWIS
132	hu.14H11c.V3-53*1.H10 VH FR2 hu.14H11c-H11 VH FR2	WVRQAPGKGGLEWVS
133	hu.14H11c-H11.Q39E VH FR2	WVREAPGKGGLEWVS
134	rb.14H11c VH FR3	RFTISKTSSTAVTLQMSSLTAADTATYFCAR
135	hu.14H11c.V3-53*1.H1 VH FR3 hu.14H11c.V3-53*1.H2 VH FR3 hu.14H11c.V3-53*1.H3 VH FR3 hu.14H11c.V3-53*1.H4 VH FR3 hu.14H11c.V3-53*1.H9 VH FR3 hu.14H11c.V3-23.H1 VH FR3	RFTISKDSSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYFCAR
136	hu.14H11c.V3-53*1.H5 VH FR3	RFTISRDSSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYFCAR
137	hu.14H11c.V3-53*1.H6 VH FR3	RFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYFCAR
138	hu.14H11c.V3-53*1.H7 VH FR3	RFTISKDSSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAR
139	hu.14H11c.V3-53*1.H8 VH FR3	RFTISKDSSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
140	hu.14H11c.V3-53*1.H10 VH FR3 hu.14H11c-H11 VH FR3 hu.14H11c-H11.Q39E VH FR3	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
141	hu.14H11c.V3-53*4.H1 VH FR3	RFTISKHSSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYFCAR
142	hu.14H11c.V3-33*2.H1 VH FR3	RFTISKDSSTNTVFLQMNSLRAEDTAVYFCAR
143	hu.14H11c.V3-21.H1 VH FR3	RFTISKDTASTSVYLQMNSLRAEDTAVYFCAR
144	rb.14H11c VH FR4 hu.14H11c.V3-53*1.H1 VH FR4 hu.14H11c.V3-53*1.H2 VH FR4 hu.14H11c.V3-53*1.H3 VH FR4 hu.14H11c.V3-53*1.H4 VH FR4 hu.14H11c.V3-53*1.H5 VH FR4	WGPGLTVTVSS

	hu.14H11c.V3-53*1.H6 VH FR4 hu.14H11c.V3-53*1.H7 VH FR4 hu.14H11c.V3-53*1.H8 VH FR4 hu.14H11c.V3-53*4.H1 VH FR4 hu.14H11c.V3-23.H1 VH FR4 hu.14H11c.V3-33*2.H1 VH FR4 hu.14H11c.V3-21.H1 VH FR4 hu.14H11c-H11 VH FR4 hu.14H11c-H11.Q39E VH FR4	
145	hu.14H11c.V3-53*1.H9 VH FR4 hu.14H11c.V3-53*1.H10 VH FR4	WGQGTLVTVSS
146	rb.14H11c VL FR1	AIEMTQSPSLSASVGETVRIRC
147	hu.14H11c.K1-39.L1 VL FR1 hu.14H11c.K1-39.L2 VL FR1 hu.14H11c.K1-39.L3 VL FR1 hu.14H11c.K1-39.L4 VL FR1 hu.14H11c-L2.Q38K VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIC
148	hu.14H11c.K1-5.L1 VL FR1	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIC
149	hu.14H11c.K1-8.L1 VL FR1	AIRMTQSPSSFSASTGDRVITIC
150	hu.14H11c.K1-6.L1 VL FR1	AIQMTQSPSSLSASVGDRVITIC
151	rb.14H11c VL FR2	WYQKPGKPPTLLIY
152	hu.14H11c.K1-39.L1 VL FR2 hu.14H11c.K1-39.L3 VL FR2 hu.14H11c.K1-5.L1 VL FR2 hu.14H11c.K1-8.L1 VL FR2 hu.14H11c.K1-6.L1 VL FR2	WYQKPGKPPKLLIY
153	hu.14H11c.K1-39.L2 VL FR2 hu.14H11c.K1-39.L4 VL FR2	WYQKPGKAPKLLIY
154	hu.14H11c-L2.Q38K VL FR2	WYQKPGKAPKLLIY
155	rb.14H11c VL FR3	GVPPRFTGSGSGTDYTLTIGGVQAEDAATYYC
156	hu.14H11c.K1-39.L1 VL FR3 hu.14H11c.K1-39.L2 VL FR3 hu.14H11c.K1-8.L1 VL FR3 hu.14H11c.K1-6.L1 VL FR3 hu.14H11c-L2.Q38K VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC
157	hu.14H11c.K1-39.L3 VL FR3 hu.14H11c.K1-39.L4 VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC
158	hu.14H11c.K1-5.L1 VL FR3	GVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPDDEFATYYC
159	rb.14H11c VL FR4	FGAGTKVEIK
160	hu.14H11c.K1-39.L1 VL FR4 hu.14H11c.K1-39.L2 VL FR4 hu.14H11c.K1-39.L3 VL FR4	FGGGTKVEIK

	hu.14H11c.K1-39.L4 VL FR4 hu.14H11c.K1-5.L1 VL FR4 hu.14H11c.K1-8.L1 VL FR4 hu.14H11c.K1-6.L1 VL FR4 hu.14H11c-L2.Q38K VL FR4	
116	Región variable de la cadena pesada rb.14H11 (VH)	QSLEESGGDL VKPGASLTLT CTASGFSFSS SYIMCWVRQA PGKGLEWIAS IYAGSSGAPY YAGWAKGRFT ISKTSSTAVT LQMSSLTAAD TATYFCAREG FAETGGYGYA AYFNLWGPGT LVTVSS
13	Región variable de la cadena pesada rb.14H11c (VH)	QSLEESGGDL VKPGASLTLT CTASGFSFSS SYIMSWVRQA PGKGLEWIAS IYAGSSGAPY YAGWAKGRFT ISKTSSTAVT LQMSSLTAAD TATYFCAREG FAETGGYGYA AYFNLWGPGT LVTVSS
14	Región variable de la cadena liviana rb.14H11c (VL) rb.14H11 VL	AIEMTQSPPS LSASVGETVR IRCLASEDIA SSVSWYQQKP GKPPTLLIYG ASNLESGVPP RFTGSGSGTD YTLTIGGVQA EDAATYYCLG GYSYSTGTA FGAGTKVEIK
198	Fab de la cadena pesada rb.14H11c (aminoácidos 20-256, cuando están numerados comenzando con la secuencia de señal)	QSLEESGGDL VKPGASLTLT CTASGFSFSS SYIMSWVRQA PGKGLEWIAS IYAGSSGAPY YAGWAKGRFT ISKTSSTAVT LQMSSLTAAD TATYFCAREG FAETGGYGYA AYFNLWGPGT LVTVSSGQPK APSVFPLAPC CGDTPSSTVT LGCLVKGYLP EPVTVTWNSG TLTNGVRTFP SVRQSSGLYS LSSVSVTSS SQPVT CNVAH PATNTKVDKT VAPSTCSKPT HHHHHHP
199	Fab de la cadena liviana rb.14H11c (aminoácidos 23-237, cuando están numerados comenzando con la secuencia de señal)	AIEMTQSPPS LSASVGETVR IRCLASEDIA NSVSWYQQKP GKPPTLLIYG ASNLESGVPP RFTGSGSGTD YTLTIGGVQA EDAATYYCLG GYSYSTGTA FGAGTKVEIN RDPVAPSVLL FPPSKEELT GTATIVCVAN KFYPDITVT WKVDGTTQQS GIENSKTPQS PEDNTYNLSS TLTLTSTQYN SHKEYTCKVT QGTTSVVQSF NRGDC
15	hu.14H11c.V3-53*1.H1 VH	EQQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYIMSWVRQ APGKGLEWIA SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISKDSSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYFCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLTVSS
16	hu.14H11c.V3-53*1.H2 VH	EVQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYIMSWVRQ APGKGLEWIA SIYAGSSGAP

		YYAGWAKGRF TISKDSSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYFCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLVTVSS
17	hu.14H11c.V3-53*1.H3 VH	EQQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRQ APGKGLEWVA SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISKDSSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYFCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLVTVSS
18	hu.14H11c.V3-53*1.H4 VH	EQQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRQ APGKGLEWIS SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISKDSSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYFCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLVTVSS
19	hu.14H11c.V3-53*1.H5 VH	EQQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRQ APGKGLEWIA SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISRDSSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYFCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLVTVSS
20	hu.14H11c.V3-53*1.H6 VH	EQQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRQ APGKGLEWIA SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISKDNSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYFCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLVTVSS
21	hu.14H11c.V3-53*1.H7 VH	EQQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRQ APGKGLEWIA SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISKDSSKNT LYLQMNSLRA EDTAVYFCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLVTVSS
22	hu.14H11c.V3-53*1.H8 VH	EQQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRQ APGKGLEWIA SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISKDSSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYYCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLVTVSS
23	hu.14H11c.V3-53*1.H9 VH	EQQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRQ APGKGLEWIA SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISKDSSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYFCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGQ GTLVTVSS
24	hu.14H11c.V3-53*1.H10 VH	EVQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRQ APGKGLEWVS SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISRDNSKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGQ

		GTLVTVSS
25	hu.14H11c.V3-53*4.H1 VH	EQQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRQ APGKGLEWIA SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISKHSSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYFCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLVTVSS
26	hu.14H11c.V3-23.H1 VH	EQQLLES GGG LVQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRQ APGKGLEWIA SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISKDSSKNT VYLQMNSLRA EDTAVYFCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLVTVSS
27	hu.14H11c.V3-33*2.H1 VH	EQQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRQ APGKGLEWIA SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISKDSSTNT VFLQMNSLRA EDTAVYFCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLVTVSS
28	hu.14H11c.V3-21.H1 VH	EQQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRQ APGKGLEWIA SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISKDTASTS VYLQMNSLRA EDTAVYFCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLVTVSS
29	hu.14H11c-H11 VH	EQQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRQ APGKGLEWVS SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISRDNKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLVTVSS
30	hu.14H11c-H11.Q39E VH	EQQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRE APGKGLEWVS SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISRDNKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLVTVSS
31	hu.14H11c.K1-39.L1 VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCLASEDIA SSVSWYQQKP GKPPKLLIYG ASNLESGVPS RFGSGSGTD YLTISSLQP EDFATYYCLG GYSYSTGTA FGGGTKVEIK
32	hu.14H11c.K1-39.L2 VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCLASEDIA SSVSWYQQKP GKAPKLLIYG ASNLESGVPS RFGSGSGTD YLTISSLQP EDFATYYCLG GYSYSTGTA FGGGTKVEIK
33	hu.14H11c.K1-39.L3 VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCLASEDIA SSVSWYQQKP GKPPKLLIYG ASNLESGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLG

		GYSYSSTGTA FGGGTKVEIK
34	hu.14H11c.K1-39.L4 VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCLASEDIA SSVSWYQQKP GKAPKLLIYG ASNLESGVPS RFGSGSGSTD FTLTISLQP EDFATYYCLG GYSYSSTGTA FGGGTKVEIK
35	hu.14H11c.K1-5.L1 VL	DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITCLASEDIA SSVSWYQQKP GKPPKLLIYG ASNLESGVPS RFGSGSGSTE YTLTISLQP DDFATYYCLG GYSYSSTGTA FGGGTKVEIK
36	hu.14H11c.K1-8.L1 VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRVT ITCLASEDIA SSVSWYQQKP GKPPKLLIYG ASNLESGVPS RFGSGSGSTD YTLTISLQP EDFATYYCLG GYSYSSTGTA FGGGTKVEIK
37	hu.14H11c.K1-6.L1 VL	AIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCLASEDIA SSVSWYQQKP GKPPKLLIYG ASNLESGVPS RFGSGSGSTD YTLTISLQP EDFATYYCLG GYSYSSTGTA FGGGTKVEIK
38	hu.14H11c.L2.Q38K VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCLASEDIA SSVSWYQKKP GKAPKLLIYG ASNLESGVPS RFGSGSGSTD YTLTISLQP EDFATYYCLG GYSYSSTGTA FGGGTKVEIK
39	hu.10C5-H28L5 CDRH1 hu.10C5-H28.N53V CDRH1 hu.10C5-H28.Q39K.N53V CDRH1	SYGVT
107	hu.10C5-H28.G33P CDRH1 hu.10C5-H28.G33P.N53V CDRH1	SYPVT
40	hu.10C5-H28L5 CDRH2 hu.10C5-H28.G33P CDRH2	YITSNYGVSYASWAKS
41	hu.10C5-H28.N53V CDRH2 hu.10C5-H28.Q39K.N53V CDRH2 hu.10C5-H28.G33P.N53V CDRH2	YITSVYGVSYASWAKS
42	hu.10C5-H28L5 CDRH3 hu.10C5-H28.N53V CDRH3 hu.10C5-H28.Q39K.N53V CDRH3 hu.10C5-H28.G33P CDRH3 hu.10C5-H28.G33P.N53V CDRH3	ENPDYGYAYDA

43	hu.10C5-H28L5 CDRL1 hu.10C5-L5.F92Y CDRL1 hu.10C5-L5.S95F CDRL1 hu.10C5-L5.F92Y.S95F CDRL1 hu.10C5-L5.Q38E.F92Y CDRL1 hu.10C5-L5.Q38E.S95F CDRL1 hu.10C5-L5.Q38E.F92Y.S95F CDRL1	QASESISNELS
44	hu.10C5-L5.S34K CDRL1 hu.10C5-L5.S34K.F92Y CDRL1 hu.10C5-L5.S34K.S95F CDRL1 hu.10C5-L5.S34K.F92Y.S95F CDRL1 hu.10C5-L5.Q38E.S34K CDRL1 hu.10C5-L5.Q38E.S34K.F92Y CDRL1 hu.10C5-L5.Q38E.S34K.S95F CDRL1 hu.10C5- L5.Q38E.S34K.F92Y.S95F CDRL1	QASESISNELK
45	hu.10C5-H28L5 CDRL2 hu.10C5-L5.S34K CDRL2 hu.10C5-L5.F92Y CDRL2 hu.10C5-L5.S95F CDRL2 hu.10C5-L5.S34K.F92Y CDRL2 hu.10C5-L5.S34K.S95F CDRL2 hu.10C5-L5.F92Y.S95F CDRL2 hu.10C5-L5.S34K.F92Y.S95F CDRL2 hu.10C5-L5.Q38E.S34K CDRL2 hu.10C5-L5.Q38E.F92Y CDRL2 hu.10C5-L5.Q38E.S95F CDRL2 hu.10C5-L5.Q38E.S34K.F92Y CDRL2 hu.10C5-L5.Q38E.S34K.S95F CDRL2 hu.10C5-L5.Q38E.F92Y.S95F CDRL2 hu.10C5- L5.Q38E.S34K.F92Y.S95F CDRL2	YASTLAS
46	hu.10C5-H28L5 CDRL3	AQGFGSSGVENV

	hu.10C5-L5.S34K CDRL3 hu.10C5-L5.Q38E.S34K CDRL3	
47	hu.10C5-L5.F92Y CDRL3 hu.10C5-L5.S34K.F92Y CDRL3 hu.10C5-L5.Q38E.F92Y CDRL3 hu.10C5-L5.Q38E.S34K.F92Y CDRL3	AQGYGSSGVENV
48	hu.10C5-L5.S95F CDRL3 hu.10C5-L5.S34K.S95F CDRL3 hu.10C5-L5.Q38E.S95F CDRL3 hu.10C5-L5.Q38E.S34K.S95F CDRL3	AQGFSGFGVENV
49	hu.10C5-L5.F92Y.S95F CDRL3 10C5-L5.S34K.F92Y.S95F CDRL3 hu.10C5-L5.Q38E.F92Y.S95F CDRL3 hu.10C5- L5.Q38E.S34K.F92Y.S95F CDRL3	AQGYGSGFGVENV
161	hu.10C5-H28L5 VH FR1 hu.10C5-H28.G33P VH FR1 hu.10C5-H28.N54V VH FR1 hu.10C5-H28.G33P.N54V VH FR1 hu.10C5-H28.Q39K.N54V VH FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLS
162	hu.10C5-H28L5 VH FR2 hu.10C5-H28.G33P VH FR2 hu.10C5-H28.N54V VH FR2 hu.10C5-H28.G33P.N54V VH FR2	WVRQAPGKGLEWIG
163	hu.10C5-H28.Q39K.N54V VH FR2	WVRKAPGKGLEWIG
164	hu.10C5-H28L5 VH FR3 hu.10C5-H28.G33P VH FR3 hu.10C5-H28.N54V VH FR3 hu.10C5-H28.G33P.N54V VH FR3 hu.10C5-H28.Q39K.N54V VH FR3	RSTISRDTSKNTVYLQMGSRLRAEDMAVYYCAR
165	hu.10C5-H28L5 VH FR4	WGQGTTVTVSS

	hu.10C5-H28.G33P VH FR4 hu.10C5-H28.N54V VH FR4 hu.10C5-H28.G33P.N54V VH FR4 hu.10C5-H28.Q39K.N54V VH FR4	
166	hu.10C5-H28L5 VL FR1 hu.10C5-L5.S34K VL FR1 hu.10C5-L5.F92Y VL FR1 hu.10C5-L5.S95F VL FR1 hu.10C5-L5.S34.KF92Y VL FR1 hu.10C5-L5.S34K.S95F VL FR1 hu.10C5-L5.F92Y.S95F VL FR1 hu.10C5-L5.S34K.F92Y.S95F VL FR1 hu.10C5-L5.Q38E.S34K VL FR1 hu.10C5-L5.Q38E.F92Y VL FR1 hu.10C5-L5.Q38E.S95F VL FR1 hu.10C5-L5.Q38E.S34K.F92Y VL FR1 hu.10C5-L5.Q38E.S34K.S95F VL FR1 hu.10C5-L5.Q38E.F92Y.S95F VL FR1 hu.10C5- L5.Q38E.S34K.F92Y.S95F VL FR1	AIRMTQSPSSFSASTGDRVITC
167	hu.10C5-H28L5 VL FR2 hu.10C5-L5.S34K VL FR2 hu.10C5-L5.F92Y VL FR2 hu.10C5-L5.S95F VL FR2 hu.10C5-L5.S34.KF92Y VL FR2 hu.10C5-L5.S34K.S95F VL FR2 hu.10C5-L5.F92Y.S95F VL FR2 hu.10C5-L5.S34K.F92Y.S95F VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
168	hu.10C5-L5.Q38E.S34K VL FR2 hu.10C5-L5.Q38E.F92Y VL FR2 hu.10C5-L5.Q38E.S95F VL FR2 hu.10C5-L5.Q38E.S34K.F92Y VL FR2 hu.10C5-L5.Q38E.S34K.S95F VL FR2	WYQEKPGKAPKLLIY

	hu.10C5-L5.Q38E.F92Y.S95F VL FR2 hu.10C5- L5.Q38E.S34K.F92Y.S95F VL FR2	
169	hu.10C5-H28L5 VL FR3 hu.10C5-L5.S34K VL FR3 hu.10C5-L5.F92Y VL FR3 hu.10C5-L5.S95F VL FR3 hu.10C5-L5.S34.KF92Y VL FR3 hu.10C5-L5.S34K.S95F VL FR3 hu.10C5-L5.F92Y.S95F VL FR3 hu.10C5-L5.S34K.F92Y.S95F VL FR3 hu.10C5-L5.Q38E.S34K VL FR3 hu.10C5-L5.Q38E.F92Y VL FR3 hu.10C5-L5.Q38E.S95F VL FR3 hu.10C5-L5.Q38E.S34K.F92Y VL FR3 hu.10C5-L5.Q38E.S34K.S95F VL FR3 hu.10C5-L5.Q38E.F92Y.S95F VL FR3 hu.10C5- L5.Q38E.S34K.F92Y.S95F VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC
170	hu.10C5-H28L5 VL FR4 hu.10C5-L5.S34K VL FR4 hu.10C5-L5.F92Y VL FR4 hu.10C5-L5.S95F VL FR4 hu.10C5-L5.S34.KF92Y VL FR4 hu.10C5-L5.S34K.S95F VL FR4 hu.10C5-L5.F92Y.S95F VL FR4 hu.10C5-L5.S34K.F92Y.S95F VL FR4 hu.10C5-L5.Q38E.S34K VL FR4 hu.10C5-L5.Q38E.F92Y VL FR4 hu.10C5-L5.Q38E.S95F VL FR4 hu.10C5-L5.Q38E.S34K.F92Y VL FR4 hu.10C5-L5.Q38E.S34K.S95F VL FR4 hu.10C5-L5.Q38E.F92Y.S95F VL	FGGGTKVEIK

	FR4 hu.10C5- L5.Q38E.S34K.F92Y.S95F VL FR4	
50	hu.10C5-H28L5 VH	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSL SYGVTWVRQA PGKGLEWIGY ITSNYGVSYY ASWAKSRSTI SRDTSKNTVY LQMGSRAED MAVYYCAREN PDYGYAYDAW GQGTTTVTVSS
51	hu.10C5-H28L5 VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITCQASESIS NELSWYQQKP GKAPKLLIYY ASTLASGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GFGSSGVENV FGGGTVKVEIK
52	hu.10C5-H28.N53V VH	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSL SYGVTWVRQA PGKGLEWIGY ITSNYGVSYY ASWAKSRSTI SRDTSKNTVY LQMGSRAED MAVYYCAREN PDYGYAYDAW GQGTTTVTVSS
53	hu.10C5-H28.Q39K.N53V VH	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSL SYGVTWVRQA PGKGLEWIGY ITSNYGVSYY ASWAKSRSTI SRDTSKNTVY LQMGSRAED MAVYYCAREN PDYGYAYDAW GQGTTTVTVSS
105	hu.10C5-H28.G33P VH	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSL SYPVTWVRQA PGKGLEWIGY ITSNYGVSYY ASWAKSRSTI SRDTSKNTVY LQMGSRAED MAVYYCAREN PDYGYAYDAW GQGTTTVTVSS
106	hu.10C5-H28.G33P.N53V VH	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSL SYPVTWVRQA PGKGLEWIGY ITSNYGVSYY ASWAKSRSTI SRDTSKNTVY LQMGSRAED MAVYYCAREN PDYGYAYDAW GQGTTTVTVSS
54	hu.10C5-L5.S34K VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITCQASESIS NELKWWYQQKP GKAPKLLIYY ASTLASGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GFGSSGVENV FGGGTVKVEIK
55	hu.10C5-L5.F92Y VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITCQASESIS NELSWYQQKP GKAPKLLIYY ASTLASGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GYGSSGVENV FGGGTVKVEIK
56	hu.10C5-L5.S95F VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITCQASESIS NELSWYQQKP GKAPKLLIYY ASTLASGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GFGSFGVENV FGGGTVKVEIK
57	hu.10C5-L5.S34K.F92Y VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITCQASESIS NELKWWYQQKP GKAPKLLIYY ASTLASGVPS

		RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GYGSSGVENV FGGGTKVEIK
58	hu.10C5-L5.S34K.S95F VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITQASESIS NELKWWYQKP GKAPKLLIY ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GFGSFGVENV FGGGTKVEIK
59	hu.10C5-L5.F92Y.S95F VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITQASESIS NELSWYQKP GKAPKLLIY ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GYGSFGVENV FGGGTKVEIK
60	hu.10C5-L5.S34K.F92Y.S95F VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITQASESIS NELKWWYQKP GKAPKLLIY ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GYGSFGVENV FGGGTKVEIK
61	hu.10C5-L5.Q38E.S34K VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITQASESIS NELKWWYQKP GKAPKLLIY ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GFGSSGVENV FGGGTKVEIK
62	hu.10C5-L5.Q38E.F92Y VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITQASESIS NELSWYQKP GKAPKLLIY ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GYGSSGVENV FGGGTKVEIK
63	hu.10C5-L5.Q38E.S95F VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITQASESIS NELSWYQKP GKAPKLLIY ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GFGSFGVENV FGGGTKVEIK
64	hu.10C5-L5.Q38E.S34K.F92Y VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITQASESIS NELKWWYQKP GKAPKLLIY ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GYGSSGVENV FGGGTKVEIK
65	hu.10C5-L5.Q38E.S34K.S95F VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITQASESIS NELKWWYQKP GKAPKLLIY ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GFGSFGVENV FGGGTKVEIK
66	hu.10C5-L5.Q38E.F92Y.S95F VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITQASESIS NELSWYQKP GKAPKLLIY ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GYGSFGVENV FGGGTKVEIK
67	hu.10C5-L5.Q38E.S34K.F92Y.S95F VL	AIRMTQSPSS FSASTGDRV ITQASESIS NELKWWYQKP GKAPKLLIY ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GYGSFGVENV FGGGTKVEIK

68	hu.9H5-H14L4 CDRH1 hu.9H5-H14.G54A CDRH1 hu.9H5-H14.G98Q CDRH1 hu.9H5-H14.G54A.G98Q CDRH1 hu.9H5-H14.Q39K CDRH1 hu.9H5-H14.Q39K.G54A CDRH1 hu.9H5-H14.Q39K.G98Q CDRH1 hu.9H5-H14.Q39K.G54A.G98Q CDRH1	SYGVS
69	hu.9H5-H14L4 CDRH2 hu.9H5-H14.G98Q CDRH2 hu.9H5-H14.Q39K CDRH2 hu.9H5-H14.Q39K.G98Q CDRH2	FIGSGGFAYYASWAKS
70	hu.9H5-H14.G54A CDRH2 hu.9H5-H14.G54A.G98Q CDRH2 hu.9H5-H14.Q39K.G54A CDRH2 hu.9H5-H14.Q39K.G54A.G98Q CDRH2	FIGSAGFAYYASWAKS
71	hu.9H5-H14L4 CDRH3 hu.9H5-H14.G54A CDRH3 hu.9H5-H14.Q39K CDRH3 hu.9H5-H14.Q39K.G54A CDRH3	DDVGGGKSLDI
72	hu.9H5-H14.G98Q CDRH3 hu.9H5-H14.G54A.G98Q CDRH3 hu.9H5-H14.Q39K.G98Q CDRH3 hu.9H5-H14.Q39K.G54A.G98Q CDRH3	DDVQGGKSLDI
73	hu.9H5-H14L4 CDRL1 hu.9H5-L4.H89V CDRL1 hu.9H5-L4.S95Y CDRL1 hu.9H5-L4.H89V.S95Y CDRL1 hu.9H5-L4.Q38E CDRL1 hu.9H5-L4.Q38E.H89V CDRL1 hu.9H5-L4.Q38E.S95Y CDRL1 hu.9H5-L4.Q38E.H89V.S95Y CDRL1	QASQSISSYLS
74	hu.9H5-H14L4 CDRL2 hu.9H5-L4.H89V CDRL2 hu.9H5-L4.S95Y CDRL2 hu.9H5-L4.H89V.S95Y CDRL2 hu.9H5-L4.Q38E CDRL2 hu.9H5-L4.Q38E.H89V CDRL2 hu.9H5-L4.Q38E.S95Y CDRL2	SASTLAS

	hu.9H5-L4.Q38E.H89V.S95Y CDRL2	
75	hu.9H5-H14L4 CDRL3 hu.9H5-L4.Q38E CDRL3	HQDYTSSNVDNT
76	hu.9H5-L4.H89V CDRL3 hu.9H5-L4.Q38E.H89V CDRL3	VQDYTSSNVDNT
77	hu.9H5-L4.S95Y CDRL3 hu.9H5-L4.Q38E.S95Y CDRL3	HQDYTSYNVDNT
78	hu.9H5-L4.H89V.S95Y CDRL3 hu.9H5-L4.Q38E.H89V.S95Y CDRL3	VQDYTSYNVDNT
171	hu.9H5-H14L4 VH FR1 hu.9H5-H14.G54A VH FR1 hu.9H5-H14.G98Q VH FR1 hu.9H5-H14.G54A.G98Q VH FR1 hu.9H5-H14.Q39K VH FR1 hu.9H5-H14.Q39K.G54A VH FR1 hu.9H5-H14.Q39K.G98Q VH FR1 hu.9H5-H14.Q39K.G54A.G98Q VH FR1	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFSLS
172	hu.9H5-H14L4 VH FR2 hu.9H5-H14.G54A VH FR2 hu.9H5-H14.G98Q VH FR2 hu.9H5-H14.G54A.G98Q VH FR2	WVRQAPGKGLEYVG
173	hu.9H5-H14.Q39K VH FR2 hu.9H5-H14.Q39K.G54A VH FR2 hu.9H5-H14.Q39K.G98Q VH FR2 hu.9H5-H14.Q39K.G54A.G98Q VH FR2	WVRKAPGKGLEYVG
174	hu.9H5-H14L4 VH FR3 hu.9H5-H14.G54A VH FR3 hu.9H5-H14.G98Q VH FR3 hu.9H5-H14.G54A.G98Q VH FR3 hu.9H5-H14.Q39K VH FR3 hu.9H5-H14.Q39K.G54A VH FR3 hu.9H5-H14.Q39K.G98Q VH FR3	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR

	hu.9H5-H14.Q39K.G54A.G98Q VH FR3	
175	hu.9H5-H14L4 VH FR4 hu.9H5-H14.G54A VH FR4 hu.9H5-H14.G98Q VH FR4 hu.9H5-H14.G54A.G98Q VH FR4 hu.9H5-H14.Q39K VH FR4 hu.9H5-H14.Q39K.G54A VH FR4 hu.9H5-H14.Q39K.G98Q VH FR4 hu.9H5-H14.Q39K.G54A.G98Q VH FR4	WGQGTLVTVSS
176	hu.9H5-H14L4 VL FR1 hu.9H5-L4.H89V VL FR1 hu.9H5-L4.S95Y VL FR1 hu.9H5-L4.H89V.S95Y VL FR1 hu.9H5-L4.Q38E VL FR1 hu.9H5-L4.Q38E.H89V VL FR1 hu.9H5-L4.Q38E.S95Y VL FR1 hu.9H5-L4.Q38E.H89V.S95Y VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIC
177	hu.9H5-H14L4 VL FR2 hu.9H5-L4.H89V VL FR2 hu.9H5-L4.S95Y VL FR2 hu.9H5-L4.H89V.S95Y VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
178	hu.9H5-L4.Q38E VL FR2 hu.9H5-L4.Q38E.H89V VL FR2 hu.9H5-L4.Q38E.S95Y VL FR2 hu.9H5-L4.Q38E.H89V.S95Y VL FR2	WYQEKPGRKAPKLLIY
179	hu.9H5-H14L4 VL FR3 hu.9H5-L4.H89V VL FR3 hu.9H5-L4.S95Y VL FR3 hu.9H5-L4.H89V.S95Y VL FR3 hu.9H5-L4.Q38E VL FR3 hu.9H5-L4.Q38E.H89V VL FR3 hu.9H5-L4.Q38E.S95Y VL FR3 hu.9H5-L4.Q38E.H89V.S95Y VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC
180	hu.9H5-H14L4 VL FR4 hu.9H5-L4.H89V VL FR4 hu.9H5-L4.S95Y VL FR4	FGGGTKVEIK

	hu.9H5-L4.H89V.S95Y VL FR4 hu.9H5-L4.Q38E VL FR4 hu.9H5-L4.Q38E.H89V VL FR4 hu.9H5-L4.Q38E.S95Y VL FR4 hu.9H5-L4.Q38E.H89V.S95Y VL FR4	
79	hu.9H5-H14L4 VH	EVQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSL SYGVSWVRQA PGKGLYVGF IGSGGFAYYA SWAKSRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLRAEDT AVYYCARDVV GGGKSLDIWG QGTLTVSS
80	hu.9H5-H14L4 VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCQASQSI SYLSWYQQKPGAPKLLIYSASTLASGVPS RFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHQ DYTSSNVDNTFGGGTKVEIK
81	hu.9H5-H14.G54A VH	EVQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSL SYGVSWVRQA PGKGLYVGF IGSAGFAYYA SWAKSRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLRAEDT AVYYCARDVV GGGKSLDIWG QGTLTVSS
82	hu.9H5-H14.G98Q VH	EVQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSL SYGVSWVRQA PGKGLYVGF IGSGGFAYYA SWAKSRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLRAEDT AVYYCARDVV GGGKSLDIWG QGTLTVSS
83	hu.9H5-H14.G54A.G98Q VH	EVQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSL SYGVSWVRQA PGKGLYVGF IGSAGFAYYA SWAKSRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLRAEDT AVYYCARDVV GGGKSLDIWG QGTLTVSS
84	hu.9H5-H14.Q39K VH	EVQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSL SYGVSWVRKA PGKGLYVGF IGSGGFAYYA SWAKSRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLRAEDT AVYYCARDVV GGGKSLDIWG QGTLTVSS
85	hu.9H5-H14.Q39K.G54A VH	EVQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSL SYGVSWVRKA PGKGLYVGF IGSAGFAYYA SWAKSRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLRAEDT AVYYCARDVV GGGKSLDIWG QGTLTVSS
86	hu.9H5-H14.Q39K.G98Q VH	EVQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSL SYGVSWVRKA PGKGLYVGF IGSGGFAYYA SWAKSRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLRAEDT AVYYCARDVV GGGKSLDIWG QGTLTVSS
87	hu.9H5-H14.Q39K.G54A.G98Q VH	EVQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSL SYGVSWVRKA PGKGLYVGF IGSAGFAYYA SWAKSRFTIS RDNSKNTLYL QMNSLRAEDT AVYYCARDVV GGGKSLDIWG QGTLTVSS

88	hu.9H5-L4.H89V VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCQASQSSIS SYLSWYQQKP GKAPKLLIYS ASTLASGVPS RFGSGSGSTD FTLTISLQP EDFATYYCVQ DYTSSNVDNT FGGGTKVEIK
89	hu.9H5-L4.S95Y VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCQASQSSIS SYLSWYQQKP GKAPKLLIYS ASTLASGVPS RFGSGSGSTD FTLTISLQP EDFATYYCHQ DYTSYNVDNT FGGGTKVEIK
90	hu.9H5-L4.H89V.S95Y VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCQASQSSIS SYLSWYQQKP GKAPKLLIYS ASTLASGVPS RFGSGSGSTD FTLTISLQP EDFATYYCVQ DYTSYNVDNT FGGGTKVEIK
91	hu.9H5-L4.Q38E VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCQASQSSIS SYLSWYQEKP GKAPKLLIYS ASTLASGVPS RFGSGSGSTD FTLTISLQP EDFATYYCHQ DYTSSNVDNT FGGGTKVEIK
92	hu.9H5-L4.Q38E.H89V VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCQASQSSIS SYLSWYQEKP GKAPKLLIYS ASTLASGVPS RFGSGSGSTD FTLTISLQP EDFATYYCVQ DYTSSNVDNT FGGGTKVEIK
93	hu.9H5-L4.Q38E.S95Y VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCQASQSSIS SYLSWYQEKP GKAPKLLIYS ASTLASGVPS RFGSGSGSTD FTLTISLQP EDFATYYCHQ DYTSYNVDNT FGGGTKVEIK
94	hu.9H5-L4.Q38E.H89V.S95Y VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCQASQSSIS SYLSWYQEKP GKAPKLLIYS ASTLASGVPS RFGSGSGSTD FTLTISLQP EDFATYYCVQ DYTSYNVDNT FGGGTKVEIK
95	Región constante de la cadena pesada de IgG1 humana (hlgG1)	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLNQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LKSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
183	Región constante de la cadena pesada de IgG1 humana (hlgG1) ΔGK	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS

		NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSP
96	hlgG1.N297G.Knob(T366W). S183K	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLKSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
184	hlgG1.N297G.Knob(T366W). S183K ΔGK	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLKSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSP
97	hlgG1.N297G.Hole(T366S. L368A.Y407V). S183E	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLESVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
185	hlgG1.N297G.Hole(T366S. L368A.Y407V). S183E ΔGK	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS

		GLYSLESVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNYHT QKSLSLSP
98	hlgG1.N297G.Knob(T366W). S183K.M428L.N434S	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLKSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV LHEALHSHYT QKSLSLSPGK
186	hlgG1.N297G.Knob(T366W). S183K.M428L.N434S ΔGK	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLKSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV LHEALHSHYT QKSLSLSP
99	hlgG1.N297G.Hole(T366S. L368A.Y407V).S183E. M428L.N434S	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLESVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV LHEALHSHYT QKSLSLSPGK
187	hlgG1.N297G.Hole(T366S.	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK

	L368A.Y407V).S183E. M428L.N434S ΔGK	DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLESVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LSDGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV LHEALHSHYT QKSLSLSP
117	hlgG1.N297G.Knob(T366W). S183E	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLESVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
188	hlgG1.N297G.Knob(T366W). S183E ΔGK	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLESVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSP
118	hlgG1.N297G.Hole(T366S). L368A.Y407V). S183K	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLKSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LSDGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

189	hlgG1.N297G.Hole(T366S. L368A.Y407V). S183K ΔGK	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLKSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSP
119	hlgG1.N297G.Knob(T366W). S183E.M428L.N434S	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLESVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV LHEALHSHYT QKSLSLSPGK
190	hlgG1.N297G.Knob(T366W). S183E.M428L.N434S ΔGK	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLESVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV LHEALHSHYT QKSLSLSP
120	hlgG1.N297G.Hole(T366S. L368A.Y407V).S183K. M428L.N434S	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLKSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLV SKLTVDKSRW

		QQGNVFSCSV LHEALHSHYT QKSLSLSPGK
191	hlgG1.N297G.Hole(T366S. L368A.Y407V).S183K. M428L.N434S ΔGK	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLKSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLNQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV LHEALHSHYT QKSLSLSP
102	Región constante de la cadena liviana kappa humana (hKappa)	RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQLLSPVTK SFNRGEC
103	hKappa.V133E	RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVECLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQLLSPVTK SFNRGEC
104	hKappa.V133K	RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVKCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQLLSPVTK SFNRGEC
108	Cadena pesada (HC) hu14H11c en hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 WT	EQQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRE APGKGLEWVS SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISRDNSKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTWSN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLKSVVTP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYGST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
192	Cadena pesada (HC) hu14H11c en hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 WT ΔGK	EQQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRE APGKGLEWVS SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISRDNSKNT LYLQMNSLRA

		EDTAVYYCAR EGFAETGGYG YAAYFNLWGP GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLKSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYGST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSP
109	Cadena liviana (LC) hu.14H11c en hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 WT	DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCLASEDIA SSVSWYQKKP GKAPKLLIYG ASNLESGVPS RFGSGSGSTD YLTISSLQP EDFATYYCLG GYSYSTGTA FGGGTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVECLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTSLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC
110	Cadena pesada (HC) hu.10C5VY en hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 WT	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSL SYGVTWVRKA PGKGLEWIGY ITSIVGVSYY ASWAKSRSTI SRDTSKNTVY LQMGSRAED MAVYYCAREN PDYGYAYDAW GQGTTTVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLESVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLVHQQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LQSDGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
193	Cadena pesada (HC) hu.10C5VY en hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 WT ΔGK	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSL SYGVTWVRKA PGKGLEWIGY ITSIVGVSYY ASWAKSRSTI SRDTSKNTVY LQMGSRAED MAVYYCAREN PDYGYAYDAW GQGTTTVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLESVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS

		NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLNQDNLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LQSDGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSP
111	Cadena liviana (LC) hu.10C5VY en hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 WT	AIRMTQSPSS FSASTGDRVT ITCQASESIS NELSWYQEKP GKAPKLLIYY ASTLASGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GYGSSGVENV FGGGKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVKCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC
112	Cadena pesada (HC) hu14H11c en hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 LS	EQQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRE APGKGLEWVS SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISRDNSKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCAR EGFAETGGYG YAAVFNLWGP GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLKSVVTP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHCPCP PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYGST YRVVSVLTVL HQDNLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVLH EALHSHYTQK SLSLSPGK
194	Cadena pesada (HC) hu14H11c en hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 LS ΔGK	EQQLVESGGG LIQPGGSLRL SCAASGFSFS SSYYMSWVRE APGKGLEWVS SIYAGSSGAP YYAGWAKGRF TISRDNSKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCAR EGFAETGGYG YAAVFNLWGP GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLKSVVTP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHCPCP PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYGST YRVVSVLTVL HQDNLNGKEY

		KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVLH EALHSHYTQK SLSLSP
113	Cadena liviana (LC) hu.14H11c en hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 LS	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCLASEDIA SSVSWYQKKP GKAPKLLIYG ASNLESGVPS RFGSGSGSTD YTLTISSLQP EDFATYYCLG GYSYSTGTA FGGGTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVECLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC
114	Cadena pesada (HC) hu.10C5VY en hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 LS	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSLs SYGVTWVRKA PGKGLEWIGY ITSIVGVSYY ASWAKSRSTI SRDTSKNTVY LQMGSRAED MAVYYCAREN PDYGYAYDAW GQGTTTVVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLESVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLNQDNLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSGGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV LHEALHSHYT QKSLSLSPGK
195	Cadena pesada (HC) hu.10C5VY en hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11 LS ΔGK	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSLs SYGVTWVRKA PGKGLEWIGY ITSIVGVSYY ASWAKSRSTI SRDTSKNTVY LQMGSRAED MAVYYCAREN PDYGYAYDAW GQGTTTVVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLESVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLNQDNLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSGGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV LHEALHSHYT QKSLSLSP

115	Cadena liviana (LC) hu.10C5VY en hu.10C5VY.hu14H11c.L2H11LS	AIRMTQSPSS FSASTGDRVT ITCQASESIS NELSWYQEKP GKAPKLLIYY ASTLASGVPS RFGSGSGSTD FTLTISSLQP EDFATYYCAQ GYGSSGVENV FGGGTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVKCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC
121	Sustrato de KLK7; Nval es norvalina	RPKPVE-Nval-WRK
181	hlgG1 "simulada".N297G.Knob(T366W). S183K para constructos con un brazo	DKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDS DGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
182	hlgG1 "simulada". N297G.Hole(T366S. L368A.Y407V). S183E para constructos con un brazo	DKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYG STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDS DGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
196	SFTI 21705 (también denominada SFTI-KLK7)	GKCLFSNPPICFPN
197	SPINK9.SRE.Fc	GSIESAKQTK QMVDCSHYKK LPPGQQRFC REYDPICGSD GKTYKNDCFF CSKVKKTDGT LK FVHFGKCG NSRAQVTDKK IEPGPTIKP CPPCKCPAPN LLGGPSVFIF PPKIKDVLMI SLSPIVTCVV VDVSEDDPDV QISWFVNNVE VHTAQQTTHR EDYNSTLRVV SALPIQHQDW MSGKEFKCKV NNKDLPAPIE RTISKPKGSV RAPQVYVLPP PEEEMTKKQV TLTCMVTD FM PEDIYVEWTN NGKTELNYKN TEPVLDS DGS YFMYSKLRVE KKNWVERNSY SCSVVHEGLH NHHTTKSFSR TPGK