

COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA LA ACTIVACIÓN DE INTEGRINAS

REFERENCIA CRUZADA A LAS SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional de Estados Unidos núm. 63/029,070, presentada el 22 de mayo de 2020, la solicitud de patente provisional de Estados Unidos núm. 63/009,020, presentada el 13 de abril de 2020, y la solicitud de patente provisional de Estados Unidos núm. 62/935,732, presentada el 15 de noviembre de 2019, cuya descripción se incorpora en la presente descripción como referencia en su totalidad.

DESCRIPCIÓN DEL ARCHIVO DE TEXTO PRESENTADO ELECTRÓNICAMENTE

El Listado de secuencias asociado con esta solicitud se proporciona en formato de texto en lugar de una copia impresa, y se incorpora en la presente descripción como referencia. El nombre del archivo de texto que contiene la lista de secuencias es PLIA_001_05WO_SeqList_ST25.txt. El archivo de texto tiene ~150 414 bytes, se creó el 13 de noviembre de 2020 y se envía electrónicamente a través de EFS-Web.

CAMPO DE LA INVENCION

La invención se refiere generalmente a composiciones y métodos para activar heterodímeros de integrina que contienen la proteína de integrina beta-1 que se une específicamente a la proteína laminina. Tales composiciones y métodos son útiles para tratar enfermedades relacionadas con el mal funcionamiento muscular, que incluyen distrofias musculares.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las células del músculo esquelético están rodeadas por una membrana basal que enlaza la membrana muscular (sarcolema) con la matriz extracelular intersticial. La membrana basal desempeña funciones clave durante el desarrollo y en los adultos, lo que ayuda al desarrollo, la integridad muscular, la sinaptogénesis y la reparación muscular.

Las mutaciones que afectan la funcionalidad o la síntesis de proteínas involucradas en las interacciones entre las células del músculo esquelético, la membrana basal y la matriz extracelular se asocian con distrofias musculares. No hay curas actuales para ninguna forma de distrofia muscular. Se han informado varios tipos que pueden

categorizarse de acuerdo con la función del gen afectado. Estas se pueden separar en varias clases, y la más importante se deriva de mutaciones en el complejo de citoesqueleto de la membrana plasmática de las miofibras (el complejo laminina/distroglucano/sarcoglucano/distrofina). Este complejo actúa como un receptor de laminina que ancla la matriz extracelular a las proteínas citoesqueléticas de las células del músculo esquelético.

La forma más frecuente de distrofia muscular que representa aproximadamente la mitad de los casos es la inducida por mutaciones en el gen de la distrofina (PNAS 1984; 81: 1189). La presencia de una forma parcialmente funcional truncada de distrofina provoca síntomas asociados con la distrofia muscular de Becker (un trastorno recesivo ligado al cromosoma X). Se observa una forma más grave en pacientes con distrofia muscular de Duchenne (DMD) (que representa la mitad de todos los casos de distrofia muscular), que tienen una mutación que provoca la ausencia de la proteína distrofina o una forma no funcional de esta. La incidencia de la DMD es de aproximadamente 1 de cada 3,500 varones recién nacidos. También se cree que las mutaciones en la distrofina agotan el grupo de células madre musculares (células satélite), que se activa en respuesta a una lesión muscular. Las mutaciones en los genes de los sarcoglucanos (sarcoglucanopatías) conducen al mal funcionamiento de un complejo proteico que facilita la interacción entre la matriz extracelular y el músculo a través de la laminina $\alpha 2$ (merosina)-distroglucano-distrofina. Dichas mutaciones también provocan distrofia muscular autosómica recesiva que se parece mucho a la distrofia de Duchenne (NEJM 1997;336: 618). Las mutaciones en la cadena $\alpha 2$ (merosina) de la laminina, aunque poco frecuentes, provocan la forma más grave de miopatía, ya que las células musculares pierden su anclaje a la matriz extracelular (Nat Genetics 1995; 11: 216).

Otra proteína, la integrina $\alpha 7\beta 1$, también une a la laminina y la proteína citoesquelética y contribuye activamente a la biología muscular, ya que su deficiencia también se asocia con una forma de distrofia muscular (Nat Genetics 1998; 19:94; Nat Genetics 1997; 17: 318). Otros dos heterodímeros que contienen beta-1 ($\alpha 3\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$) se unen a la laminina, pero no ha habido informes de distrofia muscular asociada con mutaciones en estos genes. $\alpha 7\beta 1$ es el receptor principal de laminina que se expresa en las células del músculo esquelético, cardíaco y liso vascular, y su deficiencia provoca retraso en el desarrollo y deterioro de la movilidad. Se cree que la integrina $\alpha 7\beta 1$ desempeña un papel compensatorio en las distrofias musculares asociadas con

mutaciones en proteínas asociadas con la distrofina. De hecho, su expresión está regulada positivamente en modelos humanos y animales de distrofias musculares (J Cell Sci 1997; 110: 2873). La deficiencia de la integrina $\alpha 7\beta 1$ combinada con deficiencias de distrofina, utrofina o sarcoglucano conduce a formas aún más graves de la enfermedad (Hum Mol Gen 2006; 15: 989, J Cell Sci 2006; 119: 2185, J Cell Biol 2001; 152: 1207) y además provoca disfunción miocárdica, fibrosis y calcificación (Circ Res 2008; 102: 1109).

Sigue existiendo la necesidad de un agente farmacéutico que pueda proporcionar un beneficio terapéutico a los sujetos con deficiencia o mal funcionamiento del complejo laminina/distroglucano/sarcoglucano/distrofina.

RESUMEN DE LA INVENCION

La invención proporciona un agente farmacéutico que es un agonista de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$ y que se une al dominio extracelular de al menos una de la proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ y proteína $\alpha 3$. En algunas modalidades, el agente farmacéutico de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el agente farmacéutico se une a al menos uno de: el dominio de unión a laminina de al menos una de la proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ y proteína $\alpha 3$; el dominio CALF-1 de al menos una de la proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ y proteína $\alpha 3$; y el dominio CALF-2 de al menos una de la proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ y proteína $\alpha 3$. En algunas modalidades, un agente farmacéutico es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$ y se une específicamente a la proteína $\alpha 7$. En algunas modalidades, un agente farmacéutico no aumenta la cantidad de proteína $\alpha 7$ en una célula muscular de un sujeto cuando el agente farmacéutico se administra al sujeto.

En algunas modalidades, un agente farmacéutico que es un agonista de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$ es un anticuerpo. En algunas modalidades, un anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En determinadas modalidades, un anticuerpo es un anticuerpo multiespecífico (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico). En algunas modalidades, un anticuerpo de la invención es humano, humanizado o quimérico.

En algunas modalidades, la invención abarca un agente farmacéutico que activa al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$. En algunas modalidades, un agente farmacéutico estabiliza la conformación activa de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$. En determinadas

modalidades, un agente farmacéutico no se une específicamente a la proteína $\beta 1$. En algunas modalidades, un agente farmacéutico aumenta la adhesión de un mioblasto a la merosina. Por ejemplo, el mioblasto puede ser un mioblasto humano sano o un mioblasto murino sano. Alternativamente, el mioblasto puede ser un mioblasto humano o un mioblasto murino con deficiencia de distrofina, que comprende una mutación en la distrofina o que comprende distrofina no funcional. En algunas modalidades, un agente farmacéutico aumenta la adhesión de un miotubo a la merosina. Por ejemplo, el miotubo puede ser un miotubo humano sano o un miotubo murino sano. Alternativamente, el miotubo puede ser un miotubo humano o un miotubo murino que tiene deficiencia de distrofina, comprende una mutación en la distrofina o comprende distrofina no funcional.

La invención proporciona además un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$ (por ejemplo,, integrina $\alpha 7\beta 1$ humana), o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo se une específicamente a un epítipo de la proteína $\alpha 7$, en donde el epítipo comprende, consiste esencialmente en, o consiste en: (i) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 o la SEQ ID NO: 1; (ii) 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 o 35-40 aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 o la SEQ ID NO: 1; o (iii) 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 o 35-40 aminoácidos de la SEQ ID NO: 24.

La invención proporciona, además, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo se une específicamente a un epítipo de la proteína $\alpha 7$, en donde el epítipo comprende SWWP (SEQ ID NO: 25). Además, en la presente descripción se proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo se une específicamente a un epítipo que comprende los residuos S977, W978, W979 y P980 de la SEQ ID NO: 24. En algunas modalidades, el epítipo comprende, consiste esencialmente en, o consiste en 5-10 o 10-15 aminoácidos de la SEQ ID NO: 24. La invención proporciona además un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo se une específicamente a un epítipo que comprende los residuos R958, M976, S977, W978, W979 y P980 de la SEQ ID NO: 24. En algunas modalidades, el epítipo comprende, consiste esencialmente en, o consiste en 6-10 o 10-15 aminoácidos de la SEQ ID NO: 24. En

algunas modalidades, el epítipo es continuo. En algunas modalidades, el epítipo es discontinuo.

La invención proporciona además un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, que se une específicamente a un epítipo descrito en la presente descripción y comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende una HCDR1, un HCDR2 y un HCDR3, y una región variable de la cadena ligera (VL) que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3, (i) en donde la HCDR3 comprende la SEQ ID NO: 15; y/o en donde la LCDR3 comprende la SEQ ID NO: 7; (ii) en donde la HCDR3 comprende la SEQ ID NO: 66; y/o en donde la LCDR3 comprende la SEQ ID NO: 7; o (iii) en donde la HCDR3 comprende la SEQ ID NO: 68; y/o en donde la LCDR3 comprende la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo descrito en la presente descripción y comprende una región VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 y una región VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3, en donde la HCDR2 comprende la SEQ ID NO: 3; y/o en donde la LCDR2 comprende la SEQ ID NO: 6.

En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo descrito en la presente descripción y comprende una región VH que comprende una HCDR1, un HCDR2 y un HCDR3, y una región VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3, (i) en donde la HCDR1 comprende la SEQ ID NO: 14; y/o en donde la LCDR1 comprende la SEQ ID NO: 5; (ii) en donde la HCDR1 comprende la SEQ ID NO: 65; y/o en donde la LCDR1 comprende la SEQ ID NO: 5; (iii) en donde la HCDR1 comprende la SEQ ID NO: 14; y/o en donde la LCDR1 comprende la SEQ ID NO: 69; o (iv) en donde la HCDR1 comprende la SEQ ID NO: 14; y/o en donde la LCDR1 comprende la SEQ ID NO: 71.

La invención abarca un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$ (por ejemplo, la integrina $\alpha 7\beta 1$ humana), o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 4, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o

HCDR3; en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; o en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3.

La invención abarca, además, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena ligera (VL) y una región variable de la cadena pesada (VH), en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3; en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3; o en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde: (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 4, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o

LCDR3; (ii) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3; (iii) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3; (iv) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3; o (v) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3.

La invención abarca, además, un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo de este, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende (i) la SEQ ID NO: 8, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8; (ii) la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; o (iii) la SEQ ID NO: 67, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 67.

La invención abarca un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo de este, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende (i) la SEQ ID NO: 9, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; (ii) la SEQ ID NO: 17, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17; (iii) la SEQ ID NO: 70, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70; o (iv) la SEQ ID NO: 72, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72.

La invención abarca, además, un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo de este, en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 8, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 9, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; (ii) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 17, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17; (iii) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 67, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 67; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 17, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17; (iv) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 70, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70; o (v) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos

95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 72, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera, (i) en donde la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 18, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 19; (ii) en donde la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 45, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 53; (iii) en donde la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 18, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 62; o (iv) en donde la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 18, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 63.

En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de la invención se une específicamente a la proteína $\alpha 7$. En algunos casos, el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo se une específicamente a un epítipo de la proteína $\alpha 7$ que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en (i) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10; (ii) 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 o 35-40 aminoácidos de la SEQ ID NO: 10; o (iii) 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 o 35-40 aminoácidos de la SEQ ID NO: 24.

En algunas modalidades, un fragmento de anticuerpo de la invención puede ser un Fab, un $F(ab')_2$, un Fab', un scFv, un anticuerpo de dominio único, un diacuerpo o un anticuerpo monocatenario de camélido

La invención abarca una molécula de ácido nucleico aislada que codifica un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo descrito en la presente descripción. La invención proporciona, además, un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico descrita en la presente descripción. En algunas modalidades de vectores de expresión, la molécula de ácido nucleico se une operativamente a secuencias reguladoras adecuadas para la expresión del segmento de ácido nucleico en una célula hospedera. Adicionalmente, la invención proporciona una célula hospedera recombinante que comprende un vector de expresión descrito en la presente

descripción. La invención abarca un método para producir un anticuerpo que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, el método comprende: cultivar una célula hospedera recombinante que comprende un vector de expresión descrito en la presente descripción en condiciones de manera que se expresa la molécula de ácido nucleico, para de esta manera, producir el anticuerpo que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este.

En algunas modalidades, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un agente farmacéutico, un anticuerpo que es un agonista de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, la integrina $\alpha 6\beta 1$ y la integrina $\alpha 3\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptables. En algunas modalidades, una composición farmacéutica de la invención comprende además un agente farmacéutico adicional que es un agonista de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$.

La invención abarca un método para tratar un trastorno o una enfermedad en un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente farmacéutico, un anticuerpo que es un agonista de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, para de esta manera, tratar el trastorno o la enfermedad en el sujeto. El trastorno o la enfermedad pueden caracterizarse por uno o más de los siguientes: un mal funcionamiento de la integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto; una deficiencia de distrofina en el sujeto; una mutación en la distrofina en el sujeto; distrofina no funcional en el sujeto; o una disfunción muscular que no sea el mal funcionamiento de la $\alpha 7\beta 1$, o una deficiencia, mutación o falta de funcionamiento de la distrofina.

En algunas modalidades, la disfunción muscular es causada por uno o más de los siguientes factores, o está asociada con estos: cáncer, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad renal crónica, infección por VIH/SIDA, anorexia nerviosa, bulimia, desnutrición, exposición, náuseas, diabetes tipo I, diabetes tipo II, síndrome metabólico, caquexia, anemia, insuficiencia cardíaca, presión arterial alta, rabdomiólisis, septicemia, sarcopenia, inactividad física, daño debido a actividad física excesiva, hipotermia, hipertermia, lesión, denervación, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple, atrofia muscular espinal, miopatía asociada al alcohol, miopatía asociada a quemaduras, accidente cerebrovascular, terapia con corticosteroides o interrupción de la terapia con corticosteroides, dermatomiositis, síndrome de Guillain-Barré, neuropatía, artrosis, infección, polio,

polimiositis, inflamación, artritis reumatoide, hipocolesterolemia, lesiones eléctricas, termoplejía, inmovilización prolongada, falta de flujo sanguíneo a una extremidad, o entrar en contacto con un veneno. Los métodos de tratamiento de la invención pueden comprender además una etapa de identificar a un sujeto que tiene una disfunción muscular.

En algunas modalidades, la enfermedad es una enfermedad de atrofia muscular. En algunas modalidades, una enfermedad de atrofia muscular es una distrofia muscular. En ciertos casos, la distrofia muscular es la distrofia muscular de Duchenne (DMD), la distrofia muscular de Becker, la distrofia muscular congénita de tipo 1A con deficiencia de merosina o la distrofia muscular de cinturas. Los métodos de tratamiento de la invención pueden comprender además una etapa de identificar a un sujeto que tiene una enfermedad de atrofia muscular. En algunas modalidades, la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente farmacéutico, un anticuerpo que es un agonista de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, la integrina $\alpha 6\beta 1$ y la integrina $\alpha 3\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, invierte, estabiliza o ralentiza la atrofia muscular o la disfunción muscular en el sujeto. En ciertos casos, la administración mejora la actividad muscular del sujeto. En algunas modalidades, la administración no empeora la función muscular en el sujeto. Los métodos de tratamiento de la invención pueden comprender además medir la función muscular en el sujeto después de la etapa de administración, en donde se reduce la velocidad de empeoramiento de la función muscular.

En algunas modalidades, administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico es efectiva para regular positivamente la actividad y/o la cantidad de integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto efectiva para tratar el mal funcionamiento de la integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto.

En algunas modalidades, administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico es efectiva para regular positivamente la actividad y/o la cantidad de integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto, la regulación positiva de la actividad y/o la cantidad de integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto es efectiva para mitigar al menos en parte el efecto de al menos una de: la deficiencia de distrofina en el sujeto; la mutación en la distrofina en el sujeto; o la distrofina no funcional en el sujeto.

En algunas modalidades, administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico es efectiva para mitigar la lesión muscular en el sujeto.

En algunas modalidades, administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico es efectiva para mitigar la lesión muscular excéntrica en el sujeto.

En algunas modalidades, administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico es efectiva para mejorar la función muscular del diafragma en el sujeto.

En algunas modalidades, un método de la invención comprende además administrar al sujeto una o más terapias adicionales, la una o más terapias adicionales se dirigen a la distrofia muscular o a la atrofia muscular progresiva. En algunas modalidades, la una o más terapias adicionales comprenden uno o más de: un anticonvulsivo; un inmunosupresor; un antibiótico; quinina; terapia para la atención integral de la insuficiencia cardíaca congestiva; una terapia de reemplazo génico; una terapia de omisión de exones; una terapia de supresión de mutaciones sin sentido; terapia mediante el uso de una nucleasa modificada genéticamente; terapia celular mediante el uso de células precursoras musculares o células madre; regulación positiva de la utrofina; una terapia antiinflamatoria; una terapia antifibrótica; una terapia con corticosteroides; un bloqueador de la miostatina; factor de crecimiento de insulina; un inhibidor de la fosfodiesterasa 5; un inhibidor de la ACE; inducción de la angiogénesis mediante el suministro del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF); regulación negativa del receptor señuelo de VEGF tipo 1 (VEGFR-1 o Flt-1); fisioterapia; terapia ocupacional; cirugía; intervención ortopédica; logopedia; fisioterapia respiratoria; un marcapasos; y un dispositivo de asistencia respiratoria.

La invención abarca un método para activar la integrina $\alpha 7\beta 1$ en una célula muscular de un sujeto, el método comprende: administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente farmacéutico, un anticuerpo que es un agonista de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, la integrina $\alpha 6\beta 1$ y la integrina $\alpha 3\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, que activa de esta manera una integrina $\alpha 7\beta 1$ en una célula muscular del sujeto. La invención proporciona, además, un método para aumentar la unión de la integrina $\alpha 7\beta 1$ a su ligando en una célula muscular de un sujeto, el método comprende: administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente farmacéutico, un anticuerpo que es un agonista de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, la integrina $\alpha 6\beta 1$ y la integrina $\alpha 3\beta 1$ o un fragmento de anticuerpo de este, para aumentar de esta manera la unión de la integrina $\alpha 7\beta 1$ a su ligando en una célula muscular del sujeto.

La invención proporciona un uso del agente farmacéutico de un agente farmacéutico, un anticuerpo que es un agonista de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en la fabricación de un medicamento para tratar un trastorno o una enfermedad caracterizada por un mal funcionamiento de la integrina $\alpha 7\beta 1$ en un sujeto.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 es un gráfico que muestra que la activación de la proteína integrina $\beta 1$ por un anticuerpo agonista de $\beta 1$ (TS2/16) promueve la adhesión de los mioblastos humanos a la merosina (laminina). “DMD” se refiere a los mioblastos que tienen deficiencia de distrofina y una mutación en la distrofina o distrofina no funcional.

La Figura 2 es un gráfico que muestra que la activación de la proteína integrina $\beta 1$ por un anticuerpo agonista de $\beta 1$ (TS2/16) promueve la adhesión de los miotubos humanos a la merosina (laminina). “DMD” se refiere a los mioblastos que tienen deficiencia de distrofina y una mutación en la distrofina o distrofina no funcional.

La Figura 3 es una serie de gráficos que muestran que los mioblastos expresan múltiples integrinas de laminina ($\alpha 3\beta 1$; $\alpha 6\beta 1$; $\alpha 7\beta 1$ y $\alpha 6\beta 4$) según lo medido por el análisis de FACS.

La Figura 4 es una serie de gráficos que muestran que los miotubos expresan múltiples integrinas de laminina ($\alpha 3\beta 1$; $\alpha 6\beta 1$; $\alpha 7\beta 1$ y $\alpha 6\beta 4$) según lo medido por el análisis de FACS.

La Figura 5 es un gráfico que muestra que la activación del heterodímero de la integrina $\alpha 7\beta 1$ por un anticuerpo agonista de $\beta 1$ (TS2/16) promueve la adhesión de los miotubos humanos a la merosina (laminina). “Anti $\alpha 3+\alpha 6$ ” se refiere a la combinación de anticuerpos inhibidores contra $\alpha 3\beta 1$ y $\alpha 6\beta 1$. “Anti $\alpha 3+\alpha 6+\alpha 7$ ” se refiere a la combinación de anticuerpos inhibidores contra $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$ y $\alpha 7\beta 1$. “DMD” se refiere a los miotubos con deficiencia de distrofina, que poseen una mutación en la distrofina o distrofina no funcional.

La Figura 6 muestra fotomicrografías que representan la formación de miotubos de células C2C12 cinco días después de la diferenciación.

La Figura 7 es un gráfico que muestra la expresión relativa de la distrofina según lo medido por QPCR (PCR cuantitativa) en células murinas C2C12 tratadas con ARNip o ARNip dirigido a la distrofina.

La Figura 8A es un gráfico que muestra que la activación de la proteína integrina $\beta 1$ por un anticuerpo agonista de $\beta 1$ (TS2/16) promueve la adhesión de miotubos murinos a la laminina en células de miotubos murinos C2C12 que se trataron con ARNip o ARNip dirigido a la distrofina.

La Figura 8B es un gráfico que muestra que un contribuyente principal de la adhesión a la laminina es la integrina $\alpha 7\beta 1$ tras la estimulación por TS2/16. “Anti $\alpha 3+\alpha 6$ ” se refiere a la combinación de anticuerpos inhibidores contra $\alpha 3\beta 1$ y $\alpha 6\beta 1$. “Anti $\alpha 3+\alpha 6+\alpha 7$ ” se refiere a la combinación de anticuerpos inhibidores contra $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$ y $\alpha 7\beta 1$. “DMD(KD)” se refiere a los miotubos tratados con ARNip dirigido a la distrofina. Se usó Mn^{2+} como activador de todas las integrinas para alcanzar el nivel máximo alcanzable de adhesión celular a la merosina.

La Figura 9 es un esquema del proceso mediante el cual se generaron y caracterizaron anticuerpos monoclonales que se unen a la proteína integrina $\alpha 7\beta 1$.

La Figura 10A es un gráfico que muestra los resultados de un ensayo de unión en fase sólida de la actividad de dos anticuerpos activadores (M10, M25) y un anticuerpo de bloqueo (M20) de la integrina $\alpha 7\beta 1$.

La Figura 10B es un gráfico que muestra los resultados de un ensayo de adhesión celular de la actividad de dos anticuerpos activadores (M10, M25) y un anticuerpo de bloqueo (M20) de la integrina $\alpha 7\beta 1$.

La Figura 10C es una serie de gráficos que muestran los resultados de los ELISA directos que analizan la unión de los anticuerpos M10 y M25 y un anticuerpo agonista de $\beta 1$ (TS2/16) contra las integrinas que contienen $\beta 1$.

La Figura 11A es una serie de gráficos que muestran que los anticuerpos M36 y M38 se unen a las superficies celulares que expresan integrinas $\alpha 7\beta 1$. Las células K562/simuladas (transfectadas con el vector vacío de control), K562 $\alpha 7X2$ (transfectadas con el plásmido que codifica el ADNc de la integrina $\alpha 7X2$) y C2C12 se analizaron para determinar la unión de M36, M38 y $\alpha 7$ (3C12). 3C12 es un anticuerpo de control positivo para la integrina $\alpha 7$.

La Figura 11B es una serie de gráficos que muestran que los anticuerpos M36 y M38 se unen selectivamente a las integrinas $\alpha 7\beta 1$ humanas y murinas (Hu_ $\alpha 7b1$ y Mu_ $\alpha 7b1$), a diferencia de las integrinas $\alpha 6\beta 1$ (Hu_ $\alpha 6b1$) o $\alpha 5\beta 1$ (Hu_ $\alpha 5b1$) humanas.

La Figura 12A es un diagrama de la estructura proteica de la integrina $\alpha 7$ y sus dominios. Esta figura también ilustra las secuencias de la región variable X1 (SEQ ID

NO: 1) y X2 (SEQ ID NO: 10) encontradas en el dominio extracelular de la proteína integrina $\alpha 7$.

La Figura 12B es una serie de gráficos que muestran que los anticuerpos M36 y M38 se unen preferentemente a las superficies celulares que expresan la forma X2 de la integrina $\alpha 7\beta 1$. Las líneas celulares K562 transfectadas de manera estable con ADNc de integrina humana $\alpha 7X1$ o $\alpha 7X2$ se denominan K562/Hu_ $\alpha 7X1$ o K562/Hu_ $\alpha 7X2$.

La Figura 13A es un gráfico que muestra que los anticuerpos M36 y M38 aumentan la adhesión celular de la integrina $\alpha 7\beta 1$ (K562/ $\alpha 7X2$) a la laminina humana 211 (LN211). TS2/16 es un anticuerpo agonista de $\beta 1$. M35 es un anticuerpo de control que no tiene ningún efecto en la adhesión a la laminina.

La Figura 13B es un gráfico que muestra que los anticuerpos M36 y M38 aumentan la adhesión de los miotubos de ratón en los que la distrofina se ha atenuado (KD) con respecto a la laminina.

La Figura 14 es un gráfico que muestra que los anticuerpos M36 y M38 convierten la integrina $\alpha 7\beta 1$ a una conformación activa. El anticuerpo monoclonal 9EG7 detecta la activación de la integrina $\beta 1$. Se usaron diferentes cationes para ajustar las conformaciones de integrina antes del tratamiento con anticuerpos (menos activa (Mg^{2+} 1 mM) y activa (Mn^{2+} 0.125 mM)).

La Figura 15 es una serie de gráficos que muestran que el anticuerpo monoclonal VL3VHK20TFT se une a células cotransfectadas con la subunidad de integrina alfa 7 (ITGA7) e integrina beta-1 (ITGB1). 3C12, 6A11, A1-1a M20, y A1-1a M24 son anticuerpos de control positivo para la unión a ITGA7. Estos anticuerpos se describen en la Tabla 4. La concentración óptima de detección para cada anticuerpo monoclonal se señala en un cuadro.

La Figura 16 es un gráfico que muestra que el Fab de VL3VHK20TFT se une a células cotransfectadas con la subunidad de integrina alfa 7 (ITGA7) e integrina beta-1 (ITGB1). La concentración de detección óptima para el Fab se señala en un cuadro.

La Figura 17 es un gráfico que muestra la unión del Fab de VL3VHK20TFT a una genoteca de células cotransfectadas con una genoteca de barrido con alanina de mutantes de ITGA7.

La Figura 18 es un modelo de estructura cristalina que muestra los residuos críticos para la unión del Fab de VL3VHK20TFT a la subunidad de integrina alfa 7. Los residuos críticos se muestran como esferas rojas. Los residuos secundarios se muestran como esferas azules.

La Figura 19 es un gráfico que muestra los resultados del Ejemplo 4 a diversas concentraciones para VL3VHK20 TFT; integrina $\alpha 7\beta 1$ humana a 0.25 $\mu\text{g/ml}$; unión 1:1.

La Figura 20 es un gráfico que muestra los resultados del Ejemplo 4 a varias concentraciones para VLVH; integrina $\alpha 7\beta 1$ humana a 0.25 $\mu\text{g/ml}$; unión 1:1.

La Figura 21A es un gráfico que muestra los resultados del Ejemplo 4 a varias concentraciones para VL3VHK20 TFT; integrina $\alpha 7\beta 1$ de ratón a 0.25 $\mu\text{g/ml}$; unión 1:1.

La Figura 21B es un gráfico que muestra los resultados del Ejemplo 4 a varias concentraciones para VLVH; integrina $\alpha 7\beta 1$ de ratón a 0.25 $\mu\text{g/ml}$; unión 1:1.

La Figura 22A es un gráfico que muestra los resultados del Ejemplo 4 de la unión de VL3VHK20TFT a las superficies celulares que expresan la integrina $\alpha 7\beta 1$.

La Figura 22B es un gráfico que muestra los resultados del Ejemplo 4 de la adhesión de las células que expresan $\alpha 7\beta 1$ humana a la laminina, que aumenta con VL3VHK20TFT.

La Figura 22C es un gráfico que muestra los resultados del Ejemplo 4 de la adhesión de las células que expresan $\alpha 7\beta 1$ murina a la laminina, que aumenta con VL3VHK20TFT.

La Figura 23 es un gráfico que muestra los resultados del Ejemplo 5 de la concentración de anticuerpos en $\mu\text{g/ml}$ frente al índice celular (adhesión celular mediada por la integrina $\alpha 7\beta 1$) para la adhesión de mioblastos a la laminina que aumentó tanto con el anticuerpo murino (VLVH) como con el anticuerpo humanizado (VL3VHK20TFT).

La Figura 24 es un gráfico que muestra los resultados del Ejemplo 6 para la contracción frente a la fuerza (normalizada con respecto a la contracción inicial) para el DBA2/control de IgG, el mdx/control de IgG, el mdx/anticuerpo agonista a 3 mg/kg, y el mdx/anticuerpo agonista a 15 mg/kg.

La Figura 25 es un gráfico que muestra los resultados del Ejemplo 7 para la frecuencia de estimulación en Hz frente a la fuerza (normalizada con respecto al ancho del músculo, mN/mm) para el DBA2/control de IgG, el mdx/control de IgG, el mdx/anticuerpo agonista a 3 mg/kg, y el mdx/anticuerpo agonista a 15 mg/kg.

La Figura 26 es un gráfico de barras que muestra la cantidad de creatina cinasa sérica, un biomarcador para el daño muscular, en el DBA2/control de IgG, el mdx/control de IgG, y el tratamiento con el anticuerpo agonista M36.

La Figura 27 es un gráfico de barras que muestra la cantidad de troponina esquelética, un biomarcador para el daño muscular, en el DBA2/control de IgG, el mdx/control de IgG, y el tratamiento con el anticuerpo agonista M36.

La Figura 28 es un gráfico de barras que muestra la cantidad de O-hidroxiprolina, una medida de la formación de colágeno/fibrosis en el músculo gastrocnemio en el DBA2/control de IgG, el mdx/control de IgG, y el tratamiento con el anticuerpo agonista M36.

La Figura 29 muestra varias variantes de secuencia generadas por mutagénesis dirigida a un sitio en aminoácidos ubicados en CDR1 y CDR2 de la cadena pesada, o CDR1 de la cadena ligera, del anticuerpo VL3VHK20TFT. YGISF: SEQ ID NO: 26. GYTFTSYMH: SEQ ID NO: 27. QGTSY: SEQ ID NO: 28. SGTSY: SEQ ID NO: 29. RASQSISSYLN: SEQ ID NO: 30.

La Figura 30 es un gráfico de barras que muestra la unión de variantes de secuencia de anticuerpo a la integrina $\alpha 7 \beta 1$ de la superficie celular. La unión se midió mediante citometría de flujo y se normalizó con respecto a un control de isotipo IgG4.

La Figura 31 es una ilustración que representa la región extracelular de la integrina $\alpha 7 \beta 1$ y varios dominios en ella. La cadena α de tales integrinas, por ejemplo, $\alpha 3$, $\alpha 6$ y $\alpha 7$ (mostradas), incluye cuatro dominios extracelulares: un *propulsor* β de siete láminas, un dominio “thigh” y dos dominios *calf* (CALF-1 y CALF-2). Los dominios “thigh” y “calf” tienen pliegues de sándwich β similares, del tipo de las inmunoglobulinas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La invención proporciona agentes farmacéuticos que activan heterodímeros de integrina que contienen la proteína beta-1 ($\beta 1$) que se unen específicamente a la proteína laminina. Un agonista de un heterodímero de integrina que contiene la proteína $\beta 1$ puede proporcionar beneficios terapéuticos a un sujeto con distrofia muscular asociada con un mal funcionamiento de una de las proteínas del complejo laminina/distroglucano/sarcoglucano/distrofina o la proteína laminina- $\alpha 2$ (merosina). Los heterodímeros de integrina se componen de subunidades proteicas α y β no asociadas covalentemente y actúan como receptores de adhesión transmembrana (Hynes (2002) Cell 110:673–687). En algunas modalidades, un agente farmacéutico descrito en la presente descripción es un agonista de al menos una de la integrina $\alpha 7 \beta 1$, integrina $\alpha 6 \beta 1$ e integrina $\alpha 3 \beta 1$. En determinados casos, un agente

farmacéutico es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, la integrina $\alpha 6\beta 1$ y la integrina $\alpha 3\beta 1$. En otras modalidades, un agente farmacéutico es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$ y la integrina $\alpha 6\beta 1$. En otras modalidades, un agente farmacéutico es un agonista de la integrina $\alpha 6\beta 1$ y la integrina $\alpha 3\beta 1$. Aún en otras modalidades, un agente farmacéutico es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$ y la integrina $\alpha 3\beta 1$. En una modalidad, un agente farmacéutico es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$. En otra modalidad, un agente farmacéutico es un agonista de la integrina $\alpha 6\beta 1$. Aún en otra modalidad, un agente farmacéutico es un agonista de la integrina $\alpha 3\beta 1$. En algunos ejemplos, las proteínas de integrina son proteínas de integrina humana. En algunas modalidades, un agente farmacéutico no se une específicamente a la proteína $\beta 1$.

La invención proporciona un agente farmacéutico que es un agonista de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$ y que se une al dominio extracelular de al menos una de la proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ y proteína $\alpha 3$. En algunas modalidades, un agente farmacéutico se une a al menos uno de: el dominio de unión a laminina de al menos una de la proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ y proteína $\alpha 3$; el dominio CALF-1 de al menos una de la proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ y proteína $\alpha 3$; y el dominio CALF-2 de al menos una de la proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ y proteína $\alpha 3$. Una ilustración que representa la región extracelular de la integrina $\alpha 7\beta 1$ y varios dominios en ella, que incluyen los dominios CALF, se proporciona en la Figura 31.

En determinados casos, un agente farmacéutico se une a los dominios de unión a la laminina de una o más de la proteína $\alpha 7$ (SEQ ID NO: 11), la proteína $\alpha 6$ (SEQ ID NO: 12) y la proteína $\alpha 3$ (SEQ ID NO: 13). En algunas modalidades, un agente farmacéutico se une a los dominios de unión a la laminina de la proteína $\alpha 7$ (SEQ ID NO: 11), la proteína $\alpha 6$ (SEQ ID NO: 12) y la proteína $\alpha 3$ (SEQ ID NO: 13).

En algunas modalidades, un agente farmacéutico se une al dominio CALF-1 de al menos una de la proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ y proteína $\alpha 3$. Una secuencia ilustrativa de un dominio CALF-1 humano se proporciona en la Tabla 1B. En algunas modalidades, un agente farmacéutico se une a un dominio CALF-1 que comprende la SEQ ID NO: 73.

En algunas modalidades, un agente farmacéutico se une al dominio CALF-2 de al menos una de la proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ y proteína $\alpha 3$. Una secuencia ilustrativa de un dominio CALF-2 humano se proporciona en la Tabla 1C. En algunas modalidades, un agente farmacéutico se une a un dominio CALF-2 que comprende la SEQ ID NO: 74.

La invención se refiere a un agente farmacéutico que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$ y que se une específicamente a la proteína $\alpha 7$. En una modalidad, la invención proporciona un agente farmacéutico que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$ y que se une específicamente a la proteína $\alpha 7$ con la condición negativa de que el agente farmacéutico no aumente la cantidad de proteína $\alpha 7$ en una célula muscular de un sujeto cuando el agente farmacéutico se administra al sujeto.

En algunas modalidades, la invención proporciona un agente farmacéutico que confiere un estado activado en un heterodímero de integrina $\alpha 7\beta 1$.

En algunas modalidades, un agente farmacéutico descrito en la presente descripción es un anticuerpo.

Anticuerpos

En algunas modalidades, la invención proporciona un agente farmacéutico que es un anticuerpo. En una modalidad, un anticuerpo se une específicamente a la proteína $\alpha 7$. En otra modalidad, un anticuerpo se une específicamente a la proteína $\alpha 6$. En una modalidad adicional, un anticuerpo se une específicamente a la proteína $\alpha 3$.

Como se usa en la presente descripción, el término “anticuerpo” se refiere a moléculas de inmunoglobulina (Ig) y porciones o fragmentos inmunológicamente activos de moléculas de inmunoglobulina, es decir, moléculas que contienen un sitio de unión a antígeno que se une específicamente (inmunorreacciona) con un antígeno (por ejemplo, proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ o proteína $\alpha 3$). Por “se une específicamente” o “inmunorreacciona con” se entiende que el anticuerpo reacciona con uno o más determinantes antigénicos del antígeno deseado y no reacciona con otros polipéptidos. En determinadas modalidades, se dice que un anticuerpo se une específicamente a un antígeno cuando reconoce preferentemente su antígeno diana en una mezcla compleja de proteínas y/o macromoléculas. El término “anticuerpo” se refiere ampliamente a una molécula de inmunoglobulina (Ig), que comprende generalmente cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L), o cualquier fragmento, mutante, variante o derivado funcional de esta, que retiene las características esenciales de unión a la diana de una molécula de Ig. Tales formatos de anticuerpos mutantes, variantes, o derivados se conocen en la técnica.

En un anticuerpo de longitud completa, cada cadena pesada comprende una región variable de la cadena pesada (abreviada en la presente descripción como región HCVR o VH) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada comprende tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera

comprende una región variable de la cadena ligera (abreviada en la presente descripción como región LCVR o VL) y una región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena ligera comprende un dominio, CL. Las regiones VH y VL pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada región VH y región VL se compone de tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino hasta el extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las moléculas de inmunoglobulina pueden ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY) y clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase. Los anticuerpos IgG, IgD e IgE generalmente contienen dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas y dos dominios de combinación de antígenos, cada uno compuesto por una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL). Generalmente, los anticuerpos IgA están compuestos por dos monómeros, cada monómero compuesto por dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras (como para los anticuerpos IgG, IgD, e IgE); de esta manera, la molécula IgA tiene cuatro dominios de unión a antígeno, nuevamente cada uno compuesto por una VH y una VL. Determinados anticuerpos IgA son monoméricos en el sentido de que están compuestos por dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. Los anticuerpos IgM secretados generalmente están compuestos por cinco monómeros, cada monómero compuesto por dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras (como para los anticuerpos IgG e IgE); de esta manera, la molécula de IgM tiene diez dominios de unión a antígenos, cada uno nuevamente compuesto por una VH y una VL. También existe una forma de IgM en la superficie celular y esta tiene una estructura de dos cadenas pesadas/dos cadenas ligeras, similar a los anticuerpos IgG, IgD e IgE.

El término “fragmento de unión al antígeno” o “porción de unión al antígeno” de un anticuerpo (o simplemente “fragmento del anticuerpo” o “porción del anticuerpo”), como se usa en la presente descripción, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retienen la capacidad de unirse específicamente a un antígeno (por ejemplo, proteína $\alpha 7$). Se ha demostrado que la función de unión al antígeno de un anticuerpo puede realizarse mediante fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Las modalidades de anticuerpos y fragmentos de anticuerpos también pueden ser formatos biespecíficos, triespecíficos, dobles específicos, o

multiespecíficos; específicamente se unen a dos o más antígenos diferentes. Los ejemplos de fragmentos de unión abarcados dentro del término “fragmento de unión al antígeno” de un anticuerpo incluyen (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios VL, VH, CL y CH1; (ii) un fragmento F(ab')₂, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste en los dominios VH y CH1; (iv) un fragmento Fv que consiste en los dominios VL y VH de un solo brazo de un anticuerpo, (v) un fragmento de dAb (Ward y otros, (1989) *Nature* 341:544-546, Winter y otros, publicación PCT WO 90/05144 A1, cada uno incorporado en la presente descripción como referencia en su totalidad), que comprende un único dominio variable; y (vi) una región de determinación de complementariedad aislada (CDR). La invención abarca, además, un fragmento Fab'. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, estén codificados por genes separados, pueden unirse, mediante el uso de métodos recombinantes, por un enlazador sintético que les permita producirse como una cadena proteica única en la que las regiones VL y VH se aparean para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv monocatenarios (scFv); ver por ejemplo, Bird y otros (1988) *Science* 242:423-426; y Huston y otros (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). Tales anticuerpos monocatenarios también se pretenden abarcar dentro del término “fragmento de unión al antígeno” de un anticuerpo. En determinadas modalidades de la invención, las moléculas de scFv pueden incorporarse en una proteína de fusión. En algunas modalidades, la invención incluye un anticuerpo monocatenario de camélido. También se incluyen otras formas de anticuerpos monocatenarios, tales como diacuerpos. Los diacuerpos son anticuerpos bivalentes, biespecíficos en los que los dominios VH y VL se expresan en una sola cadena polipeptídica, pero mediante el uso de un enlazador que es demasiado corto para permitir el apareamiento entre los dos dominios en la misma cadena, lo que obliga de esta manera a los dominios a aparearse con dominios complementarios de otra cadena y crear dos sitios de unión a antígenos (véase, por ejemplo, Holliger, P., y otros (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Poljak, R. J., y otros (1994) *Structure* 2:1121-1123). Tales fragmentos de unión de anticuerpo se conocen en la técnica (Kontermann y Dubel eds., *Antibody Engineering* (2001) Springer-Verlag. Nueva York. 790 páginas). En algunos aspectos, la invención incluye un anticuerpo de dominio único. En general, el término “anticuerpo” cuando se usa en la presente descripción abarca un “fragmento de anticuerpo”. Un fragmento de

anticuerpo generalmente retiene las propiedades de unión al antígeno de un anticuerpo de longitud completa.

En determinadas modalidades, la invención proporciona anticuerpos y fragmentos de anticuerpos que son agonistas de la integrina $\alpha 7\beta 1$ y que comprenden una o más secuencias de aminoácidos mostradas en la Tabla 2 o Tabla 3.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 4, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; o en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3.

La invención abarca, además, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena ligera (VL) y una región variable de la cadena pesada (VH), en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3; en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3; o en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de

estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 4, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3; (ii) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3; (iii) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3; (iv) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3; o (v) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de

aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende una secuencia de HCDR1 que comprende la SEQ ID NO: 14 con una sustitución de aminoácidos en su octavo residuo de aminoácido, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 66 o SEQ ID NO: 68; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 69 o SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende (i) SEQ ID NO: 8, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8; (ii) SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; o (iii) SEQ ID NO: 67, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 67.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 66 o SEQ ID NO: 68; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 69 o SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el

anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia

de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66; y la secuencia de aminoácidos de la

región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el

anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia

de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, la invención abarca un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena ligera (VL) y una región variable de la cadena pesada (VH), en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende (i) SEQ ID NO: 9, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; (ii) SEQ ID NO: 17, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17; (iii) SEQ ID NO: 70, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70; o (iv) SEQ ID NO: 72, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72.

La invención proporciona además un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 8, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 9, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; (ii) la secuencia

de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 17, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17;(iii) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 67, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 67; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 17, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17; (iv) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 70, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70; o (v) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 72, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7 \beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera, (i) en donde la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 18, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 19; (ii) en donde la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 45, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 53; (iii) en donde la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 18, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 62; (iv) en donde la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 18, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 63.

En algunas modalidades, en la presente descripción se proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo es hlgG4-1, hlgG4-2, hlgG4-3, hlgG4-4, hlgG4-5, hlgG4-6, hlgG4-7, hlgG4-8, hlgG4-9, hlgG4-10, hlgG4-11, hlgG4-12, hlgG4-13, hlgG4-14, hlgG4-15, hlgG4-16, hlgG4-17, hlgG4-18, hlgG4-19, hlgG4-20, hlgG4-21, hlgG4-22, hlgG4-23, hlgG4-24, hlgG4-25, hlgG4-26, hlgG4-27, hlgG4-28, hlgG4-29, hlgG4-30, hlgG4-31, hlgG4-32, hlgG4-33, hlgG4-34, hlgG4-35, hlgG4-36, hlgG4-37, hlgG4-38, hlgG4-39, hlgG4-40, hlgG4-41, hlgG4-42, hlgG4-43, hlgG4-44, hlgG4-45, hlgG4-46, hlgG4-47, hlgG4-48 o hlgG4-49. Las combinaciones de secuencias de cadena pesada y cadena ligera que forman estos anticuerpos se proporcionan en la Tabla 10.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti- $\alpha 7$ o un fragmento de anticuerpo de unión a $\alpha 7$ comprende un polipéptido que tiene una o más sustituciones, deleciones o inserciones de aminoácidos en comparación con un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos de una o más de las SEQ ID NO: 2-9, 14-19 y 31-72. Por ejemplo, un anticuerpo anti- $\alpha 7$ o un fragmento de anticuerpo de unión a $\alpha 7$ puede tener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más sustituciones, deleciones o inserciones de aminoácidos. Las sustituciones, deleciones o inserciones pueden introducirse mediante técnicas estándar, tales como mutagénesis dirigida al sitio o mutagénesis mediada por PCR de una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido de un anticuerpo anti- $\alpha 7$ o un fragmento de anticuerpo de unión a $\alpha 7$.

En algunas modalidades, las sustituciones conservadoras de aminoácidos se realizan en una o más posiciones en las secuencias de aminoácidos de anticuerpos o fragmentos de anticuerpo descritos en la presente descripción. Una “sustitución de aminoácidos conservadora” es una en la que el residuo de aminoácido se reemplaza por un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. En determinadas modalidades, las sustituciones conservadoras de aminoácidos se realizan solo en las secuencias FR y no en las secuencias de CDR de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo. Las familias de residuos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares se han definido en la técnica, que incluyen cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares sin carga (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales beta ramificadas (por ejemplo, treonina,

valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano; histidina). Por lo tanto, un residuo de aminoácido en un polipéptido de un anticuerpo anti- $\alpha 7$ o un fragmento de anticuerpo de unión a $\alpha 7$ puede reemplazarse con otro residuo de aminoácido de la misma familia de cadenas laterales. En algunas modalidades, una cadena de aminoácidos puede reemplazarse con una cadena estructuralmente similar que difiere en orden y/o composición de los miembros de la familia de cadenas laterales. En algunas modalidades, una sustitución puede reemplazar el residuo de aminoácido original con un residuo de aminoácido relativamente más hidrófobo. En algunas modalidades, una sustitución puede reemplazar el residuo de aminoácido original con un residuo de aminoácido relativamente menos hidrófobo. Los expertos en la técnica serán capaces de evaluar si un anticuerpo anti- $\alpha 7$ o un fragmento de anticuerpo de unión a $\alpha 7$ que comprende un polipéptido que tiene una o más sustituciones, deleciones o inserciones de aminoácidos en comparación con un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos de una o más de las SEQ ID NO: 2-9, 14-19 y 31-72 se une a la proteína $\alpha 7$ mediante la utilización de métodos reconocidos en la técnica que incluyen, pero no se limitan a, ELISA, transferencias Western, presentación en fagos, etc.

Los cálculos de homología o identidad de secuencia (los términos se usan indistintamente en la presente descripción) entre las secuencias pueden realizarse de la siguiente manera.

Para determinar el por ciento de identidad de dos secuencias de aminoácidos, o de dos secuencias de ácido nucleico, las secuencias se alinean para fines de comparación óptimos (por ejemplo, pueden introducirse espacios en una o ambas de una primera y una segunda secuencia de aminoácidos o ácido nucleico para una alineación óptima y las secuencias no homólogas pueden ignorarse para fines de comparación). En una modalidad preferida, la longitud de una secuencia de referencia alineada para fines de comparación es de al menos 30 %, preferentemente al menos 40 %, con mayor preferencia al menos 50 %, aun con mayor preferencia al menos 60 %, y aun con mayor preferencia al menos 70 %, 75 %, 80 %, 82 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de la longitud de la secuencia de referencia. Después se comparan los residuos de aminoácidos o nucleótidos en las posiciones de aminoácidos o posiciones de nucleótidos correspondientes. Cuando una posición en la primera secuencia está ocupada por el mismo residuo de aminoácido o nucleótido que la posición

correspondiente en la segunda secuencia, entonces las moléculas son idénticas en esa posición (como se usa en la presente descripción, la “identidad” de aminoácidos o ácidos nucleicos es equivalente a la “homología” de aminoácidos o ácidos nucleicos). El por ciento de identidad entre las dos secuencias es una función de la cantidad de posiciones idénticas compartidas por las secuencias, teniendo en cuenta la cantidad de brechas, y la longitud de cada brecha, que debe introducirse para una alineación óptima de las dos secuencias.

La comparación de secuencias y la determinación del por ciento de identidad entre dos secuencias pueden lograrse mediante el uso de un algoritmo matemático. En una modalidad, el por ciento de identidad entre dos secuencias de aminoácidos se determina mediante el uso del algoritmo de Needleman y otros ((1970) J. Mol. Biol. 48:444-453) que se ha incorporado en el programa GAP en el paquete informático GCG (disponible en www.gcg.com), mediante el uso de una matriz BLOSUM 62 o una matriz PAM250, y un peso de las brechas de 16, 14, 12, 10, 8, 6, o 4 y un peso de la longitud de 1, 2, 3, 4, 5, o 6. En aún otra modalidad, el por ciento de identidad entre dos secuencias de nucleótidos se determina mediante el uso del programa GAP en el paquete informático GCG (disponible en www.gcg.com), mediante el uso de una matriz NWSgapdna.CMP y un peso de brecha de 40, 50, 60, 70, u 80 y un peso de longitud de 1, 2, 3, 4, 5 o 6. Un conjunto de parámetros (y el que puede usarse si el profesional no está seguro acerca de los parámetros que deben aplicarse para determinar si una molécula está dentro de una identidad de secuencia o limitación de homología de la invención) es una matriz de puntuación BLOSUM 62 con una penalización de brecha de 12, una penalización de extensión de brecha de 4, y una penalización de brecha de desplazamiento del marco de lectura de 5.

El por ciento de identidad entre dos secuencias de aminoácidos o nucleótidos puede determinarse mediante el uso del algoritmo de Meyers y otros ((1989) CABIOS 4:11-17) que se ha incorporado al programa ALIGN (versión 2.0), mediante el uso de una tabla de residuos de peso PAM120, una penalidad de la longitud de la brecha de 12 y una penalidad de la brecha de 4.

En algunas modalidades, un anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En algunas modalidades, un anticuerpo es un anticuerpo policlonal. El término “anticuerpo monoclonal” se refiere a una población de moléculas de anticuerpos que contienen solo una especie de un sitio de unión al antígeno que puede inmunorreaccionar con un epítipo particular de un antígeno. Por lo tanto, una composición de anticuerpo

monoclonal muestra típicamente una única afinidad de unión para una proteína particular con la que inmunorreacciona.

En algunas modalidades, un anticuerpo de la invención es humanizado, quimérico o humano.

En algunas modalidades, un anticuerpo de la invención es un anticuerpo humanizado y un agonista de integrina. “Anticuerpo humanizado” como se usa el término en la presente descripción se refiere a un anticuerpo que se ha modificado genéticamente para comprender una o más regiones marco humanas en la región variable junto con regiones determinantes de complementariedad (CDR) no humanas (por ejemplo, de ratón, rata o hámster) de la cadena pesada y/o ligera. En determinadas modalidades, un anticuerpo humanizado comprende secuencias que son completamente humanas excepto por las regiones de CDR. Los anticuerpos humanizados son típicamente menos inmunogénicos para los seres humanos, con relación a los anticuerpos no humanizados, y por lo tanto ofrecen beneficios terapéuticos en determinadas situaciones. Los expertos en la técnica estarán al tanto de los anticuerpos humanizados, y también estarán al tanto de las técnicas adecuadas para su generación. Véase por ejemplo, Hwang, W. Y. K., y otros, *Methods* 36:35, 2005; Queen y otros, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:10029-10033, 1989; Jones y otros, *Nature*, 321:522-25, 1986; Riechmann y otros, *Nature*, 332:323-27, 1988; Verhoeven y otros, *Science*, 239:1534-36, 1988; Orlandi y otros, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU.*, 86:3833-37, 1989; patente de Estados Unidos núms. 5,225,539; 5,530,101; 5,585,089; 5,693,761; 5,693,762; 6,180,370; y Selick y otros, documento WO 90/07861, cada uno de los cuales se incorpora en la presente descripción como referencia en su totalidad. En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención puede comprender una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 4; y una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7; y una o más secuencias de regiones marco humanas. En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención puede comprender una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15; y una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7; y una o más

secuencias de regiones marco humanas. En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención puede comprender una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66; y una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7; y una o más secuencias de regiones marco humanas. En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención puede comprender una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68; y una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7; y una o más secuencias de regiones marco humanas. En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención puede comprender una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68; y una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7; y una o más secuencias de regiones marco humanas.

En algunas modalidades, un anticuerpo de la invención es un anticuerpo quimérico y un agonista de integrina. “Anticuerpo quimérico” como se usa el término en la presente descripción se refiere a un anticuerpo que se ha modificado genéticamente para comprender al menos una región constante humana. Por ejemplo, una o todas las regiones variables de la(s) cadena(s) ligera(s) y/o una o todas las regiones variables de la(s) cadena(s) pesada(s) de un anticuerpo de ratón (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal de ratón) pueden unirse cada una a una región constante humana, tal como, sin limitación, una región constante humana IgG1. Los anticuerpos quiméricos son típicamente menos inmunogénicos para los seres humanos, con relación a los anticuerpos no quiméricos, y por lo tanto ofrecen beneficios terapéuticos en determinadas situaciones. Los expertos en la técnica estarán al tanto de los anticuerpos quiméricos, y también estarán al tanto de las técnicas adecuadas para su generación. Véase, por ejemplo, Cabilly y otros, patente de Estados Unidos núm. 4,816,567; Shoemaker y otros, patente de Estados Unidos núm. 4,978,775; Beavers y otros, patente de Estados Unidos núm. 4,975,369; y Boss y otros, patente de Estados Unidos núm. 4,816,397, cada una de las cuales se incorpora en la presente

descripción como referencia en su totalidad. En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención puede comprender una región VH que comprende la SEQ ID NO: 8; una región VL que comprende la SEQ ID NO: 9, y una región constante humana. En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención puede comprender una región VH que comprende la SEQ ID NO: 16; una región VL que comprende la SEQ ID NO: 17, y una región constante humana. En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención puede comprender una región VH que comprende la SEQ ID NO: 67; una región VL que comprende la SEQ ID NO: 17, y una región constante humana. En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención puede comprender una región VH que comprende la SEQ ID NO: 16; una región VL que comprende la SEQ ID NO: 70, y una región constante humana. En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención puede comprender una región VH que comprende la SEQ ID NO: 16; una región VL que comprende la SEQ ID NO: 72, y una región constante humana.

En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7 \beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, puede comprender una región constante de inmunoglobulina. En algunas modalidades, la región constante de inmunoglobulina es IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 o IgA2. En algunas modalidades, la región constante de inmunoglobulina es IgG1, IgG2, IgG3, IgG1nulo, IgG4(S228P), IgA1 o IgA2. La molécula de anticuerpo o porción de unión al antígeno de este puede comprender una región constante inmunológicamente inerte. En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo de este puede comprender una región constante de inmunoglobulina que comprende una región constante de IgG1 humana de tipo silvestre, una región constante de IgG1 humana que comprende las sustituciones de aminoácidos L234A, L235A y G237A o una región constante de IgG1 humana que comprende las sustituciones de aminoácidos L234A, L235A, G237A y P331S. En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo de este puede comprender una región constante de inmunoglobulina que comprende una región constante de IgG2 humana de tipo silvestre o una región constante de IgG4 humana de tipo silvestre. En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo de este puede comprender una región constante de inmunoglobulina que comprende una secuencia de aminoácidos de una región Fc de IgG4 humana, IgG4 (S228P) humana, IgG2 humana, IgG1 humana,

IgG1-3M humana o IgG1-4M humana. Por ejemplo, la región Fc de IgG4(S228P) humana comprende la siguiente sustitución en comparación con la región Fc de IgG4 humana de tipo silvestre: S228P. Por ejemplo, la región Fc de IgG1-3M humana comprende las siguientes sustituciones en comparación con la región Fc de IgG1 humana de tipo silvestre: L234A, L235A y G237A, mientras que la región Fc de IgG1-4M humana comprende las siguientes sustituciones en comparación con la región Fc de IgG1 humana de tipo silvestre: L234A, L235A, G237A y P331S. En algunas modalidades, una posición de un residuo de aminoácido en una región constante de una molécula de inmunoglobulina se numera de acuerdo con la nomenclatura EU (Ward y otros, 1995 *Therap. Immunol.* 2:77-94).

En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, puede comprender una región constante de la cadena ligera de inmunoglobulina que es una región constante de la cadena ligera kappa o una región constante de la cadena ligera lambda.

En algunas modalidades, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo se une específicamente a un epítipo de la proteína $\alpha 7$. En algunas modalidades, un epítipo de la proteína $\alpha 7$ al que se une un anticuerpo o fragmento de anticuerpo es continuo. En algunas modalidades, un epítipo de la proteína $\alpha 7$ al que se une un anticuerpo o fragmento de anticuerpo es discontinuo.

En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente al dominio extracelular de la proteína $\alpha 7$. La proteína $\alpha 7$ puede tener dos secuencias extracelulares diferentes (designadas "X1" y "X2") debido a modificaciones postranscripcionales. La región que es variable entre las secuencias X1 y X2 se ubica entre los dominios de repetición de homología III y IV de la proteína $\alpha 7$, cerca del supuesto sitio de unión al ligando. En determinadas modalidades, un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo de este que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$ se une específicamente a una región de la proteína $\alpha 7$ entre los dominios de repetición de homología III y IV cerca del supuesto sitio de unión al ligando. La secuencia X1 consiste en, consiste esencialmente en, o comprende TARVELCAQGSADLAHLDDGPYEAGGEKEQDPRLIPVPANSYFG (SEQ ID NO: 1). La secuencia X2 consiste, consiste esencialmente en, o comprende

LLFVTNIDSSDPDQLVYKTLDPADRLPGPAGDLALNSYLG (SEQ ID NO: 10). La secuencia X2 se expresa preferentemente en células esqueléticas adultas. En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo de la proteína $\alpha 7$ que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la SEQ ID NO: 10. En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo de la proteína $\alpha 7$ que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 o 35-40 aminoácidos de la SEQ ID NO: 10. En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo de la proteína $\alpha 7$ que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la SEQ ID NO: 1. En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo de la proteína $\alpha 7$ que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 35-40 o 40-44 aminoácidos de la SEQ ID NO: 1.

En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo de la proteína $\alpha 7$ que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 o 35-40 aminoácidos de la SEQ ID NO: 24.

En algunas modalidades, un anticuerpo se une a un dominio CALF-2 de la proteína $\alpha 7$ (por ejemplo, proteína $\alpha 7$ humana).

En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo de la proteína $\alpha 7$, en donde el epítipo comprende SWWP (SEQ ID NO: 25). En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo de la proteína $\alpha 7$, en donde el epítipo comprende SWWP (SEQ ID NO: 25), y en donde el epítipo comprende, consiste esencialmente en, o consiste en 5-10 o 10-15 aminoácidos de la SEQ ID NO: 24. En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo que comprende los residuos S977, W978, W979 y P980 de la SEQ ID NO: 24. En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une

específicamente a un epítipo que comprende los residuos S977, W978, W979 y P980 de la SEQ ID NO: 24, en donde el epítipo comprende, consiste esencialmente en, o consiste en 5-10 o 10-15 aminoácidos de la SEQ ID NO: 24. En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo que comprende los residuos R958, M976, S977, W978, W979 y P980 de la SEQ ID NO: 24. En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo que comprende los residuos R958, M976, S977, W978, W979 y P980 de la SEQ ID NO: 24, en donde el epítipo comprende, consiste esencialmente en, o consiste en 6-10 o 10-15 aminoácidos de la SEQ ID NO: 24.

En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo descrito en la presente descripción y comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende una HCDR1, un HCDR2 y un HCDR3, y una región variable de la cadena ligera (VL) que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3, (i) en donde la HCDR3 comprende la SEQ ID NO: 15; y/o en donde la LCDR3 comprende la SEQ ID NO: 7; (ii) en donde la HCDR3 comprende la SEQ ID NO: 66; y/o en donde la LCDR3 comprende la SEQ ID NO: 7; o (iii) en donde la HCDR3 comprende la SEQ ID NO: 68; y/o en donde la LCDR3 comprende la SEQ ID NO: 7. En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo descrito en la presente descripción y comprende una región VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 y una región VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3, en donde la HCDR2 comprende la SEQ ID NO: 3; y/o en donde la LCDR2 comprende la SEQ ID NO: 6. En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo descrito en la presente descripción y comprende una región VH que comprende una HCDR1, un HCDR2 y un HCDR3, y una región VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3, (i) en donde la HCDR1 comprende la SEQ ID NO: 14; y/o en donde la LCDR1 comprende la SEQ ID NO: 5; (ii) en donde la HCDR1 comprende la SEQ ID NO: 65; y/o en donde la LCDR1 comprende la SEQ ID NO: 5; (iii) en donde la HCDR1 comprende la SEQ ID NO: 14; y/o en donde la LCDR1 comprende la SEQ ID NO: 69; o (iv) en donde la HCDR1

comprende la SEQ ID NO: 14; y/o en donde la LCDR1 comprende la SEQ ID NO: 71. En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, se une específicamente a un epítipo descrito en la presente descripción y comprende una región VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3, y una región VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3, en donde las CDR comprenden una o más de las CDR de las siguientes secuencias de aminoácidos: HCDR1: SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 65, HCDR2: SEQ ID NO: 3, HCDR3: SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 66 o SEQ ID NO: 68, LCDR1: SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 69 o SEQ ID NO: 71, LCDR2: SEQ ID NO: 6, y LCDR3: SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo se une específicamente al dominio de unión a laminina (o un epítipo dentro del dominio de unión a laminina) de la proteína $\alpha 7$, la proteína $\alpha 6$ y/o la proteína $\alpha 3$. En algunos casos, un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo de este que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$ se une específicamente a un epítipo de la proteína $\alpha 7$ que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 o 35-40 aminoácidos del dominio de unión a laminina de la proteína $\alpha 7$, la proteína $\alpha 6$ y/o la proteína $\alpha 3$.

Como se usa en la presente descripción, el término “epítipo” incluye cualquier determinante proteico que puede unirse específicamente a una inmunoglobulina o un fragmento de inmunoglobulina. Los determinantes epitópicos generalmente consisten en agrupaciones de moléculas en la superficie químicamente activas, tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar, y generalmente tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como también características de carga específicas. El término “epítipo” también se refiere a una unidad de estructura que se une convencionalmente a un par de una región variable de la cadena pesada de inmunoglobulina (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL). Un epítipo puede definir el sitio de unión mínimo para un anticuerpo, y por lo tanto representa la diana de especificidad de un anticuerpo.

Como se usa en la presente descripción, los términos “unión inmunitaria”, y “propiedades de unión inmunitaria” se refieren a las interacciones no covalentes del tipo que ocurren entre una molécula de inmunoglobulina (por ejemplo, anticuerpo) y un antígeno para el cual la inmunoglobulina es específica. La fuerza, o afinidad de las interacciones de unión inmunitaria pueden expresarse en términos de la constante de

disociación (K_d) de la interacción, en donde una K_d menor representa una mayor afinidad. Las propiedades de unión inmunitaria de polipéptidos seleccionados pueden cuantificarse mediante el uso de métodos conocidos en la técnica. Uno de estos métodos implica medir las tasas de formación y disociación del complejo entre el antígeno y el sitio de unión al antígeno, en donde esas tasas dependen de las concentraciones de los miembros del complejo, la afinidad de la interacción, y los parámetros geométricos que influyen de igual manera en la tasa en ambas direcciones. Así, tanto la “constante de la tasa de activación” (K_{on}) como la “constante de la tasa de desactivación” (K_{off}) pueden determinarse mediante el cálculo de las concentraciones y las tasas reales de asociación y disociación. (Véase Nature 361:186-87 (1993)). La relación de K_{off} / K_{on} permite la cancelación de todos los parámetros no relacionados con la afinidad, y es igual a la constante de disociación K_d . (Véase, en general, Davies y otros (1990) *Annual Rev Biochem* 59:439-473). Se dice que un anticuerpo de la presente invención se une específicamente a un epítipo de PD-L1 cuando la constante de unión en equilibrio (K_d) es $\leq 10 \mu\text{M}$, preferentemente $\leq 10 \text{ nM}$, con mayor preferencia $\leq 10 \text{ nM}$, y con la máxima preferencia $\leq 100 \text{ pM}$ a aproximadamente 1 pM , según lo medido por ensayos tales como ensayos de unión a radioligandos o ensayos similares conocidos para los expertos en la técnica.

En determinados aspectos, un anticuerpo de la invención es monovalente o bivalente y comprende una cadena simple o doble. Funcionalmente, la afinidad de unión de un anticuerpo puede estar dentro del intervalo de 10^{-5}M a 10^{-12}M . Por ejemplo, la afinidad de unión de un anticuerpo es de 10^{-6}M a 10^{-12}M , de 10^{-7}M a 10^{-12}M , de 10^{-8}M a 10^{-12}M , de 10^{-9}M a 10^{-12}M , de 10^{-5}M a 10^{-11}M , de 10^{-6}M a 10^{-11}M , de 10^{-7}M a 10^{-11}M , de 10^{-8}M a 10^{-11}M , de 10^{-9}M a 10^{-11}M , de 10^{-10}M a 10^{-11}M , de 10^{-5}M a 10^{-10}M , de 10^{-6}M a 10^{-10}M , de 10^{-7}M a 10^{-10}M , de 10^{-8}M a 10^{-10}M , de 10^{-9}M a 10^{-10}M , de 10^{-5}M a 10^{-9}M , de 10^{-6}M a 10^{-9}M , de 10^{-7}M a 10^{-9}M , de 10^{-8}M a 10^{-9}M , de 10^{-5}M a 10^{-8}M , de 10^{-6}M a 10^{-8}M , de 10^{-7}M a 10^{-8}M , de 10^{-5}M a 10^{-7}M , de 10^{-6}M a 10^{-7}M o de 10^{-5}M a 10^{-6}M .

Efectos de los agentes farmacéuticos

La invención abarca agentes farmacéuticos (por ejemplo, anticuerpos) que activan al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$. En algunas modalidades, un agente farmacéutico estimula la unión del complejo de integrina a las lamininas. En algunas modalidades, un agente farmacéutico estabiliza la

conformación activa de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$.

En determinados aspectos, un agente farmacéutico aumenta la adhesión de un mioblasto a la laminina- $\alpha 2$ (merosina). En algunos casos, un mioblasto es un mioblasto humano sano o un mioblasto murino sano. En otros casos, un mioblasto es un mioblasto humano o un mioblasto murino con deficiencia de distrofina, comprende una mutación en la distrofina o comprende distrofina no funcional.

En algunas modalidades, un agente farmacéutico aumenta la adhesión de un miotubo a la laminina- $\alpha 2$ (merosina). En algunos casos, un miotubo es un miotubo humano sano o un miotubo murino sano. En otros casos, un miotubo es un miotubo humano o un miotubo murino que tiene deficiencia de distrofina, comprende una mutación en la distrofina o comprende distrofina no funcional.

En algunos aspectos, la activación de un heterodímero de integrina por un agente farmacéutico puede tener uno o más de los siguientes efectos: i) aumento de la fuerza de los enlaces existentes entre las células musculares, mioblastos/miotubos y su entorno extracelular; ii) aumento de la síntesis de la matriz extracelular por parte de las células musculares; iii) aumento de la supervivencia de las células musculares; y iv) aumento del reclutamiento y la migración de células satélite que proporcionan la capacidad regenerativa del músculo esquelético.

Moléculas de ácido nucleico, vectores, células hospederas y métodos de producción de agentes farmacéuticos

Un aspecto de la invención abarca una molécula de ácido nucleico (por ejemplo, una molécula de ácido nucleico aislada) que codifica un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo descrito en la presente descripción (o una región VH, una región VL, o tanto una región VH como una región VL de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo). En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende la SEQ ID NO: 8, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende la SEQ ID NO: 67, o una

secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 67. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende la SEQ ID NO: 9, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende la SEQ ID NO: 17, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende la SEQ ID NO: 70, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende la SEQ ID NO: 72, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72.

En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica (i) una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende la SEQ ID NO: 8, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8; y (ii) una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende la SEQ ID NO: 9, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica (i) una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y (ii) una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende la SEQ ID NO: 17, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica (i) una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende la SEQ ID NO: 67, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 67; y (ii) una secuencia de aminoácidos de la región

VL que comprende la SEQ ID NO: 17, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica (i) una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y (ii) una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende la SEQ ID NO: 70, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica (i) una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y (ii) una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende la SEQ ID NO: 72, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72.

Además, en la presente descripción se proporciona una molécula de ácido nucleico (por ejemplo, una molécula de ácido nucleico aislada) que codifica (i) una cadena pesada, (ii) una cadena ligera, o (iii) tanto una cadena pesada como una cadena ligera de un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo descrito en la presente descripción. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada que codifica una cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 20 o una secuencia de nucleótidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 20. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 45, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 45. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada

que codifica una cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 21 o una secuencia de nucleótidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 21. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 53, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 53. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 62, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 63, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 63.

En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica (i) una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; y (ii) una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada comprende (i) la SEQ ID NO: 20 o una secuencia de nucleótidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 20; y (ii) la SEQ ID NO: 21 o una secuencia de nucleótidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 21. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica (i) una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 45, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 45; y (ii) una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 53, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 53. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica (i) una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 18, o una secuencia

de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; y (ii) una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 62, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico aislada codifica (i) una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; y (ii) una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 63, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 63.

La invención abarca, además, un vector de expresión que comprende una molécula de ácido nucleico descrita en la presente descripción. En determinados vectores, una molécula de ácido nucleico se une operativamente a una o más secuencias reguladoras adecuadas para la expresión del segmento de ácido nucleico en una célula hospedera. En algunos casos, un vector de expresión comprende secuencias que median la replicación y comprende uno o más marcadores de selección.

La invención proporciona además una célula hospedera recombinante que comprende un vector de expresión descrito en la presente descripción. Un vector de expresión puede transfectarse en una célula hospedera mediante técnicas estándar. Los ejemplos no limitantes incluyen electroporación, precipitación con fosfato de calcio, transfección con DEAE-dextrano y similares.

En algunos aspectos, la invención contempla un método para producir un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo que es un agonista de la integrina $\alpha 7 \beta 1$, el método comprende: cultivar una célula hospedera recombinante que comprende un vector de expresión descrito en la presente descripción en condiciones de manera que el segmento de ácido nucleico se expresa, de esta manera, produce el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo que es un agonista de la integrina $\alpha 7 \beta 1$. Los anticuerpos anti- $\alpha 7$ y fragmentos de unión a $\alpha 7$ de estos pueden producirse mediante cualquiera de una variedad de métodos conocidos para los expertos en la técnica. En determinadas modalidades, los anticuerpos anti- $\alpha 7$ y fragmentos de anticuerpo de unión a $\alpha 7$ pueden producirse de manera recombinante. Por ejemplo, las secuencias de ácido nucleico que codifican una o más de las SEQ ID NO: 2-9, 14-19 y 31-72, o porciones de estas, pueden introducirse en una célula bacteriana (por ejemplo, *E. coli*, *B. subtilis*)

o una célula eucariota (por ejemplo, una levadura tal como *S. cerevisiae*, o una célula de mamífero tal como una línea celular CHO, diversas líneas celulares Cos, una célula HeLa, diversas líneas celulares de mieloma, o una célula B transformada o hibridoma), o en un sistema de traducción *in vitro*, y el polipéptido traducido puede aislarse. En algunas modalidades, las proteínas de la cadena ligera y las proteínas de la cadena pesada del anticuerpo se producen en una célula con una secuencia líder (también denominada secuencia señal) que se elimina tras la producción de un anticuerpo anti- $\alpha 7$ maduro o fragmento de unión a $\alpha 7$ de este. En algunas modalidades, la secuencia líder es MDPKGSLSWRILLFLSLAFELSYG (SEQ ID NO: 22) o METDTLLLWVLLLWVPGSTG (SEQ ID NO: 23).

Los expertos en la técnica podrán determinar si un anticuerpo o fragmento que comprende una secuencia polipeptídica dada se une a la proteína $\alpha 7$ sin experimentación indebida mediante el uso de metodologías estándar tales como, sin limitación, transferencias Western, ensayos ELISA, y similares.

Usos de agentes farmacéuticos

La invención abarca métodos y usos de los agentes farmacéuticos descritos en la presente descripción para proporcionar un beneficio terapéutico a un sujeto con un trastorno o una enfermedad. En algunos aspectos, un método comprende administrar a un sujeto que necesita una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente farmacéutico (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo) descrito en la presente descripción (por ejemplo, un agonista de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$), para tratar de esta manera el trastorno o la enfermedad en el sujeto. El trastorno o la enfermedad pueden caracterizarse por un mal funcionamiento de la integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto. Por ejemplo, el sujeto puede tener una mutación en la integrina $\alpha 7\beta 1$. Es posible que el sujeto no tenga suficiente integrina $\alpha 7\beta 1$. El trastorno o la enfermedad pueden caracterizarse por una deficiencia de distrofina en el sujeto. El trastorno o la enfermedad pueden caracterizarse por una mutación en la distrofina en el sujeto. El trastorno o la enfermedad pueden caracterizarse por distrofina no funcional en el sujeto. El trastorno o la enfermedad pueden caracterizarse por una disfunción muscular distinta del mal funcionamiento de $\alpha 7\beta 1$, o deficiencia, mutación o falta de funcionamiento de la distrofina en el sujeto.

En algunas modalidades, la disfunción muscular en un sujeto es causada por uno o más de los siguientes trastornos, o está asociada con estos: cáncer, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad renal

crónica, infección por VIH/SIDA, anorexia nerviosa, bulimia, desnutrición, exposición, náuseas, diabetes tipo I, diabetes tipo II, síndrome metabólico, caquexia, anemia, insuficiencia cardíaca, presión arterial alta, rabdomiólisis, septicemia, sarcopenia, inactividad física, daño debido a actividad física excesiva, hipotermia, hipertermia, lesión, denervación, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple, atrofia muscular espinal, miopatía asociada al alcohol, miopatía asociada a quemaduras, accidente cerebrovascular, terapia con corticosteroides o interrupción de la terapia con corticosteroides, dermatomiositis, síndrome de Guillain-Barré, neuropatía, artrosis, infección, polio, polimiositis, inflamación, artritis reumatoide, hipocolesterolemia, lesiones eléctricas, termoplejía, inmovilización prolongada, falta de flujo sanguíneo a una extremidad, o contacto con veneno. En algunas modalidades, un método de la invención comprende además identificar a un sujeto que tiene o está en riesgo de tener una disfunción muscular.

En algunas modalidades, una enfermedad que puede tratarse mediante los métodos y las composiciones de la invención es una enfermedad de atrofia muscular progresiva. En algunos casos, una enfermedad de atrofia muscular progresiva es una deficiencia de distroglucanos, una deficiencia de sarcoglucanos o una deficiencia de merosina. En un ejemplo, una enfermedad de atrofia muscular progresiva puede ser una distrofia muscular. Los ejemplos no limitantes de distrofia muscular incluyen distrofia muscular de Duchenne (DMD), distrofia muscular de Becker, distrofia muscular congénita de tipo 1A con deficiencia de merosina y distrofia muscular de cinturas. En algunas modalidades, un método de la invención comprende además identificar a un sujeto que tiene o está en riesgo de tener una enfermedad de atrofia muscular progresiva.

En algunas modalidades, la eficacia de una composición de la invención en el tratamiento de una enfermedad de atrofia muscular progresiva puede analizarse mediante el uso de un modelo animal. Los ejemplos no limitantes de modelos animales de DMD incluyen el modelo de ratón Mdx/C57BL/10 (proteína afectada: distrofina), el modelo de ratón Mdx/D2 (proteína afectada: distrofina), el modelo de ratón mdx-utrn-/- (proteínas afectadas: distrofina y utrofina), y el modelo de rata de inactivación de Mdx (proteína afectada: distrofina). Un ejemplo no limitante de un modelo animal de distrofia muscular de cinturas es el ratón nulo para Sgca (proteína afectada: sarcoglucano alfa). Un ejemplo no limitante de un modelo animal de distrofia muscular

congénita de tipo 1A con deficiencia de merosina (MDC1A) es el ratón LAMA2dyw/dyw (proteína afectada: laminina alfa2).

En algunas modalidades, la administración de un agente farmacéutico descrito en la presente descripción a un sujeto que lo necesita invierte, estabiliza o ralentiza la atrofia muscular progresiva o la disfunción muscular en el sujeto. En otras modalidades, la administración de un agente farmacéutico descrito en la presente descripción a un sujeto que lo necesita no empeora la función muscular en el sujeto. Un método de la invención puede comprender además medir la función muscular en el sujeto después de la etapa de administración, en donde se reduce la velocidad de empeoramiento de la función muscular.

En algunas modalidades, administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico puede ser efectiva para regular positivamente la actividad y/o la cantidad de integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto efectiva para tratar el mal funcionamiento de la integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto.

En algunas modalidades, administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico puede ser efectiva para regular positivamente la actividad y/o la cantidad de integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto. La actividad y/o cantidad reguladas positivamente de la integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto puede ser efectiva para mitigar al menos en parte el efecto de la deficiencia de distrofina en el sujeto. La actividad y/o cantidad reguladas positivamente de la integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto puede ser efectiva para mitigar al menos en parte el efecto de la mutación en la distrofina en el sujeto. La actividad y/o cantidad reguladas positivamente de la integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto puede ser efectiva para mitigar al menos en parte el efecto de la distrofina no funcional en el sujeto.

En algunas modalidades, administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico puede ser efectiva para mitigar la lesión muscular en el sujeto. Por ejemplo, administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico puede ser efectiva para mitigar la lesión muscular excéntrica en el sujeto. Administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico puede ser efectiva para mejorar la función muscular del diafragma en el sujeto.

En varias modalidades, el método puede incluir administrar al sujeto una o más terapias adicionales. La una o más terapias adicionales pueden dirigirse a la distrofia muscular o a la atrofia muscular progresiva, por ejemplo, cualquier terapia convencional o experimental para la distrofia muscular. La una o más terapias

adicionales pueden incluir medicamentos, cirugía con o sin trasplante, una intervención física tal como la fisioterapia o un dispositivo médico. Por ejemplo, la una o más terapias adicionales pueden incluir un anticonvulsivo. La una o más terapias adicionales pueden incluir un inmunosupresor. La una o más terapias adicionales pueden incluir un antibiótico. La una o más terapias adicionales pueden incluir quinina. La una o más terapias adicionales pueden incluir terapia para la atención integral de la insuficiencia cardíaca congestiva. La una o más terapias adicionales pueden incluir una terapia de reemplazo génico. La una o más terapias adicionales pueden incluir una terapia de omisión de exones. La una o más terapias adicionales pueden incluir una terapia de supresión de mutaciones sin sentido. La una o más terapias adicionales pueden incluir terapia mediante el uso de una nucleasa modificada genéticamente. La una o más terapias adicionales pueden incluir terapia celular mediante el uso de células precursoras musculares o células madre. La una o más terapias adicionales pueden incluir la regulación positiva de la utrofina. La una o más terapias adicionales pueden incluir un antiinflamatorio. La una o más terapias adicionales pueden incluir un antifibrótico. La una o más terapias adicionales pueden incluir un terapia con corticosteroides. En algunas modalidades, una terapia con corticosteroides comprende un corticosteroide o un corticosteroide anabólico. La una o más terapias adicionales pueden incluir un bloqueador de miostatina. La una o más terapias adicionales pueden incluir factor de crecimiento de insulina. La una o más terapias adicionales pueden incluir un inhibidor de la fosfodiesterasa 5; un inhibidor de la ACE. La una o más terapias adicionales pueden incluir la inducción de la angiogénesis a través del suministro del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). La una o más terapias adicionales pueden incluir la regulación negativa del receptor señuelo del VEGF tipo 1 (VEGFR-1 o Flt-1). La una o más terapias adicionales pueden incluir fisioterapia; terapia ocupacional. El uno o más tratamientos pueden incluir cirugía. La una o más terapias adicionales pueden incluir intervención ortopédica. La una o más terapias adicionales pueden incluir logopedia. La una o más terapias adicionales pueden incluir fisioterapia respiratoria. La una o más terapias adicionales pueden incluir un marcapasos. La una o más terapias adicionales pueden incluir un dispositivo de asistencia respiratoria.

En varias modalidades, el método puede incluir además administrar al sujeto una o más terapias adicionales. La una o más terapias adicionales pueden dirigirse a mitigar

la distrofia muscular. La una o más terapias adicionales pueden dirigirse a mitigar la atrofia muscular progresiva.

En algunas modalidades, la una o más terapias adicionales pueden incluir una o más de, por ejemplo: un anticonvulsivo; un inmunosupresor, por ejemplo prednisona y deflazacort; un antibiótico; y quinina.

En varias modalidades, la una o más terapias adicionales pueden incluir terapia para la atención integral de la insuficiencia cardíaca congestiva, por ejemplo, miocardiopatía dilatada, por ejemplo, mediante el uso de medicamentos anticongestivos y/o trasplante cardíaco. Algunos ejemplos de tratamientos que pueden usarse para la insuficiencia cardíaca congestiva incluyen los siguientes: por ejemplo: inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) (ACE-I); bloqueadores de receptores de angiotensina (ARB); agentes bloqueadores beta-adrenérgicos (betabloqueadores); hidralazina; nitratos tales como dinitrato de isosorbida; un antagonista de la aldosterona; digoxina; diuréticos, por ejemplo, diuréticos de asa, diuréticos similares a la tiazida, y diuréticos ahorradores de potasio; un anticoagulante; un antagonista de los receptores de la vasopresina, por ejemplo, conivaptán; sacubitrilo/valsartán; ivabradina; suplementación de hierro; restricción de líquidos; y restricción de sodio.

En varias modalidades, la una o más terapias adicionales pueden incluir una o más genoterapias, por ejemplo, terapia de reemplazo génico. Por ejemplo, una genoterapia implica el reemplazo del gen de la distrofina mediante el uso de vectores virales. Por ejemplo, los virus adenoasociados, que incluyen las microdistrofinas, se han inyectado en un modelo canino de DMD, lo que resulta en un beneficio sustancial para la histopatología muscular. Se están realizando ensayos clínicos para reemplazar genes defectuosos en sujetos humanos con DMD mediante el uso de virus adenoasociados recombinantes. Los ejemplos incluyen, por ejemplo, rAAV2.5-CMV-Mini-distrofia, rAAVrh74.MCK-Mini-distrofia, y rAAV1.CMV.huFolistatina344.

En algunas modalidades, la una o más genoterapias pueden incluir, por ejemplo, omisión de exones, en la que se usan secuencias de oligonucleótidos antisentido sintéticos para actualizar las mutaciones del gen de la distrofina. Se omiten exones específicos durante el empalme de ARN previo al mensajero (pre-ARNm) del gen de la distrofina, que restaura el marco de lectura y la producción parcial de una proteína truncada internamente. Las terapias de omisión de exones pueden incluir agentes para la omisión, por ejemplo: el exón 53, tal como SRP4053 (Serapta), PRO053

(Prosensa), y NS-065/NCNP-01; el exón 51, tal como PRO051; eteplirsén (AVI-4658), y drisapersén (GSK2402968); el exón 45, tal como DS-5141, PRO045 y SRP4045; y el exón 44, tal como PRO044. Por ejemplo, el PRO051, un oligorribonucleótido de 2'-O-metil-fosforotioato que omite el exón 51 en el pre-ARNm de la distrofina, se ha inyectado en sujetos humanos con DMD, lo que resulta en una restauración de la distrofina del 17 % al 35 %. Además, por ejemplo, eteplirsén (AVI-4658) es un oligómero de morfolino fosforamidato que también omite el exón 51 en el pre-ARNm de la distrofina.

En varias modalidades, la una o más genoterapias pueden incluir, por ejemplo, terapia de supresión de mutaciones sin sentido. Aproximadamente entre el 10 % y el 15 % de los casos de DMD se deben a mutaciones puntuales que forman un codón de terminación prematura. Estos codones de terminación prematura generalmente causan la pérdida de la proteína funcional. El reconocimiento de dichos codones de terminación prematura puede mitigarse mediante agentes de supresión de mutaciones sin sentido efectivas para restaurar la traducción y producción de una proteína de distrofina modificada. Los agentes de supresión de mutaciones sin sentido pueden incluir, por ejemplo, aminoglucósidos tales como gentamicina, atalureno (Translarna), y sulfato de arbekacina (NPC-14).

En varias modalidades, la una o más genoterapias pueden incluir, por ejemplo, el uso de nucleasas modificadas genéticamente tales como CRISPR-Cas9. Por ejemplo, los ratones mdx tratados con endonucleasas Cas9-repeticiones palindrómicas cortas, agrupadas e interespaciadas regularmente, guiadas por ARN, administradas por virus adenoasociados, mitigaron los cambios distróficos en las fibras musculares esqueléticas, los cardiomiocitos y las células musculares satélite.

En algunas modalidades, la una o más terapias adicionales pueden incluir uno o más tratamientos celulares, por ejemplo, mediante el uso de células precursoras musculares o células madre, por ejemplo, transferencia de mioblastos, trasplante intraarterial de mesoangioblastos donantes hermanos humanos compatibles por antígenos leucocitarios, células madre pluripotentes inducidas, células madre mesenquimales alogénicas basadas en el cordón umbilical, y células madres mononucleares y autólogas de la médula ósea.

En varias modalidades, la una o más terapias adicionales pueden incluir estabilización de membrana y regulación positiva de proteínas citoesqueléticas. Por ejemplo, la regulación positiva de utrofina, integrina alfa-7-beta-1,110 biglucano y sarcospan

estabilizaron el sarcolema en ratones mdx. Por ejemplo, se demostró que los compuestos SMT C1100 y SMT022357 se dirigen al promotor de utrofina-A y aumentan la producción de utrofina y reducen los cambios distróficos en el músculo esquelético y cardíaco.

En varias modalidades, la una o más terapias adicionales pueden incluir uno o más tratamientos antiinflamatorios. Los fármacos antiinflamatorios pueden incluir, por ejemplo: VBP15; givinostat (inhibidor de HDAC); péptido del dominio de unión a NEMO; CAT-1004 (Edasalonexent, inhibidor de NF- κ B); flavocoxid; TAS-205 (inhibidor de la PDGD2 sintasa); idebenona; pentoxifilina; coenzima Q10; N-acetilcisteína; extracto de té verde; melatonina; pentoxifilina y oxatomida. Por ejemplo, la inhibición de NF- κ B mediante el uso del péptido de dominio de unión a NEMO dio como resultado una mejor patología y función muscular en modelos de distrofia muscular en ratones.

En algunas modalidades, la una o más terapias adicionales pueden incluir uno o más tratamientos antifibróticos, por ejemplo, bloqueadores del TGF- β tales como losartán, un bloqueador del receptor de angiotensina II tipo 1 que reduce la expresión de TGF- β ; lisinopril; HT-100 (halofuginona); FG-3019 (anticuerpo monoclonal contra CTGF); y microARN dirigidos.

En varias modalidades, la una o más terapias adicionales pueden incluir tratamientos de regeneración muscular. Por ejemplo, los agentes adecuados pueden incluir: bloqueadores de la miostatina tales como ACE-031, MYO-029, follistatina, PF-06252616; y BMS-986089; o factor de crecimiento de insulina, solo o combinado además con células estromales mesenquimales.

En varias modalidades, la una o más terapias adicionales pueden incluir el tratamiento de la isquemia muscular, por ejemplo, mediante la inhibición de la fosfodiesterasa 5 mediante el uso de tadalafilo, sildenafil, y vardenafilo; inhibidores de la ACE; inducción de la angiogénesis a través del suministro del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF); y la regulación negativa del receptor señuelo del VEGF tipo 1 (VEGFR-1 o Flt-1).

En algunas modalidades, la una o más terapias adicionales pueden incluir una o más intervenciones físicas, por ejemplo: fisioterapia, terapia ocupacional, cirugía, intervención ortopédica (por ejemplo, ortesis de tobillo y pie), logopedia, y fisioterapia respiratoria.

En varias modalidades, la una o más terapias adicionales pueden incluir uno o más dispositivos médicos, por ejemplo: un marcapasos; o un dispositivo de asistencia respiratoria tal como un respirador o un dispositivo de presión positiva continua en las vías respiratorias.

La invención proporciona además un método para activar la integrina $\alpha 7\beta 1$ en una célula muscular de un sujeto, el método comprende: administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente farmacéutico (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo) descrito en la presente descripción, y activar de esta manera la integrina $\alpha 7\beta 1$ en una célula muscular del sujeto.

La invención proporciona, además, un método para aumentar la unión de la integrina $\alpha 7\beta 1$ a su ligando en una célula muscular de un sujeto, el método comprende: administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente farmacéutico (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo) descrito en la presente descripción, y aumentar de esta manera la unión de la integrina $\alpha 7\beta 1$ a su ligando en una célula muscular del sujeto.

Como se usa en la presente descripción, el término “paciente que lo necesite” o “sujeto que lo necesite” se refiere a un paciente o sujeto en riesgo, o que padece, de una enfermedad, trastorno o afección que es susceptible al tratamiento o mejora con un agonista de un heterodímero de integrina que comprende una proteína $\beta 1$ o una composición que comprende tal agonista proporcionado en la presente descripción. Un paciente o sujeto que lo necesite puede ser, por ejemplo, un paciente o sujeto al que se le haya diagnosticado una enfermedad asociada con el mal funcionamiento de la integrina $\alpha 7\beta 1$, tal como una enfermedad de atrofia muscular progresiva. Un sujeto puede tener una mutación o un mal funcionamiento en una de las proteínas en el complejo laminina/distroglucano/sarcoglucano/distrofina. En otras modalidades, un sujeto puede tener una mutación o mal funcionamiento en la laminina- $\alpha 2$ (merosina). “Sujeto” y “paciente” se usan indistintamente en la presente descripción.

En determinadas modalidades, un sujeto puede ser un ser humano, un primate no humano, un cerdo, un caballo, una vaca, un perro, un gato, un ratón o una rata.

Como se usa en la presente descripción, el término “cantidad efectiva” o “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a la cantidad de un agente farmacéutico, por ejemplo, un anticuerpo, que es suficiente para reducir o mejorar la gravedad y/o la duración de un trastorno, por ejemplo, distrofia muscular, o uno o más síntomas de este, prevenir el avance de un trastorno, provocar la regresión de un trastorno, evitar

la recurrencia, desarrollo, aparición o progresión de uno o más síntomas asociados con un trastorno, detectar un trastorno, o aumentar o mejorar el (los) efecto(s) profiláctico(s) o terapéutico(s) de otro terapia (por ejemplo, agente profiláctico o terapéutico). La cantidad efectiva de un anticuerpo puede, por ejemplo, aumentar la regeneración muscular, el mantenimiento o la reparación, y/o aliviar en cierta medida uno o más de los síntomas asociados con la enfermedad de atrofia muscular progresiva.

En determinados aspectos, un sujeto que lo necesita puede tratarse con un agente farmacéutico descrito en la presente descripción y un agente farmacéutico adicional que tiene un mecanismo de acción diferente (por ejemplo, corrección génica, aumento de la regeneración muscular o disminución de la inflamación y la fibrosis) que se usa para tratar la enfermedad de atrofia muscular progresiva.

La invención contempla además un uso de un agente farmacéutico (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo) descrito en la presente descripción en la fabricación de un medicamento para tratar un trastorno o una enfermedad caracterizada por un mal funcionamiento de la integrina $\alpha 7\beta 1$ en un sujeto. La invención también incluye un uso de un agente farmacéutico (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo) descrito en la presente descripción para tratar un trastorno o una enfermedad caracterizada por un mal funcionamiento de la integrina $\alpha 7\beta 1$ en un sujeto.

Composiciones farmacéuticas

Los agentes farmacéuticos de la invención (también denominados en la presente descripción “compuestos activos”), y los derivados, fragmentos, análogos y homólogos de estos, pueden incorporarse en composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración. Tales composiciones típicamente comprenden un anticuerpo y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptables. En algunas modalidades, una composición farmacéutica comprende un agente farmacéutico que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$. En otras modalidades, una composición farmacéutica comprende al menos dos, al menos tres o al menos cuatro agentes farmacéuticos diferentes que son agonistas de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$. Como se usa en la presente descripción, el término “farmacéuticamente aceptable” se refiere a las entidades moleculares y composiciones que generalmente no producen reacciones alérgicas u otras reacciones adversas graves cuando se administran mediante el uso de rutas bien

conocidas en la técnica. Las entidades moleculares y composiciones aprobadas por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o que figuren en la Farmacopea de los EE. UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos se consideran “farmacéuticamente aceptables”. Como se usa en la presente descripción, el término “portador farmacéuticamente aceptable” pretende incluir cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de demora de absorción, y similares, compatibles con la administración farmacéutica. Los portadores adecuados se describen en la edición más reciente de Remington’s Pharmaceutical Sciences, un texto de referencia estándar en el campo, que se incorpora en la presente descripción como referencia. Algunos ejemplos de tales portadores o diluyentes incluyen, pero no se limitan a, agua, solución salina, soluciones de Ringer, solución de dextrosa, y albúmina sérica humana al 5 %. También se pueden usar liposomas y vehículos no acuosos tales como aceites fijos. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el compuesto activo, se contempla su uso en las composiciones. Los compuestos activos complementarios también pueden incorporarse en las composiciones.

Una composición farmacéutica de la invención puede formularse para ser compatible con su vía de administración prevista. Los ejemplos de vías de administración incluyen administración parenteral, por ejemplo, intravenosa, intradérmica, subcutánea, oral (por ejemplo, inhalación), transdérmica (es decir, tópica), transmucosa, y administración rectal. Las soluciones o suspensiones utilizadas para administración parenteral, intradérmica, o subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril, tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros solventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfato de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA); tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos, y agentes para el ajuste de la tonicidad, tales como cloruro de sodio o dextrosa. El pH puede ajustarse con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral se puede envasar en ampollas, jeringas desechables o frascos de dosis múltiples de vidrio o plástico.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (cuando son solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones inyectables estériles o dispersión. Para la administración intravenosa, los portadores adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor EL[®] (BASF, Parsippany, N.J.) o solución salina amortiguada con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser líquida en la medida en que exista facilidad para llenar una jeringa. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El portador puede ser un solvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, y polietilenglicol líquido, y similares), y mezclas adecuadas de estos. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un revestimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y mediante el uso de surfactantes. La prevención de la acción de microorganismos puede lograrse mediante varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal, y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol, cloruro de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede llevarse a cabo al incluir en la composición un agente que retrasa la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse mediante la incorporación del compuesto activo en la cantidad requerida en un solvente adecuado con uno o una combinación de los ingredientes mencionados anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización con filtrado. Generalmente, las dispersiones se preparan mediante la incorporación del compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de los polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación son de secado al vacío y de secado por congelación que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional a partir de una solución filtrada previamente de manera estéril.

Las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un portador comestible. Se pueden encerrar en cápsulas de gelatina o comprimirse en comprimidos. A los fines de la administración terapéutica oral, el compuesto activo puede incorporarse con excipientes y usarse en forma de comprimidos, pastillas para chupar o cápsulas. Las composiciones orales también pueden prepararse mediante el uso de un portador líquido para su uso como un enjuague bucal, en donde el compuesto en el portador líquido se aplica por vía oral y se enjuaga y expectora o se traga. Los agentes de unión compatibles farmacéuticamente, y/o materiales adyuvantes pueden incluirse como parte de la composición. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, pastillas para chupar y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de naturaleza similar: un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente desintegrante tal como ácido algínico, Primojel® o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio; un deslizante tal como dióxido de silicio coloidal; un agente endulzante, tal como sacarosa o sacarina; o un agente saborizante tal como menta, salicilato de metilo, o sabor a naranja.

Para la administración por inhalación, los compuestos pueden administrarse en forma de aerosol desde un contenedor o dispensador a presión que contiene un propelente adecuado, por ejemplo, un gas tal como dióxido de carbono, o un nebulizador.

La administración sistémica también puede ser por medios transmucosos o transdérmicos. Para la administración transmucosa o transdérmica, se utilizan en la formulación los penetrantes adecuados para la barrera que se debe penetrar. Tales penetrantes se conocen generalmente en la técnica, e incluyen, por ejemplo, para la administración transmucosa, detergentes, sales biliares, y derivados de ácido fusídico. La administración transmucosa puede lograrse mediante el uso de aerosoles nasales o supositorios. Para la administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en ungüentos, bálsamos, geles, o cremas como se conoce generalmente en la técnica.

Los agentes farmacéuticos también pueden prepararse en forma de supositorios (por ejemplo, con bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao y otros glicéridos) o enemas de retención para el suministro rectal.

En una modalidad, los compuestos activos se preparan con portadores que protegerán el compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, que incluye implantes y sistemas de suministro

microencapsulados. Pueden usarse polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como acetato de etilenvinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de tales formulaciones serán evidentes para los expertos en la técnica. Los materiales también pueden obtenerse comercialmente. Las suspensiones liposomales (que incluyen liposomas dirigidos a células infectadas con anticuerpos monoclonales contra antígenos virales) también pueden usarse como portadores farmacéuticamente aceptables. Estos pueden prepararse de acuerdo con métodos conocidos para los expertos en la técnica, por ejemplo, como se describió en la patente de Estados Unidos núm. 4,522,811.

Es especialmente ventajoso formular composiciones orales o parenterales en forma farmacéutica unitaria para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación. La forma farmacéutica unitaria como se usa en la presente descripción se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. La especificación para las formas farmacéuticas unitarias de la invención se dictan y dependen directamente de las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular que se debe lograr, y las limitaciones inherentes en la técnica de la composición de dicho compuesto activo para el tratamiento de los individuos.

Las composiciones farmacéuticas pueden incluirse en un recipiente, paquete, o dispensador junto con las instrucciones para la administración.

Los encabezados de sección usados en la presente descripción son solo para fines organizativos y no deben interpretarse como limitantes del tema descrito. Todos los documentos, o partes de los documentos, citados en la presente descripción, que incluyen pero sin limitarse a patentes, solicitudes de patentes, artículos, libros, y tratados, se incorporan por la presente expresamente como referencia en su totalidad para cualquier propósito. En caso de que uno o más de los documentos incorporados o partes de los documentos definan un término que contradiga la definición de ese término en la solicitud, prevalecerá la definición que aparece en esta solicitud. Sin embargo, la mención de cualquier referencia, artículo, publicación, patente, publicación de patente, y solicitud de patente citada en la presente descripción no es, y no debe tomarse como un reconocimiento, o cualquier forma de sugerencia, de que

constituyen una técnica previa válida o forman parte del conocimiento general común en cualquier país del mundo.

En la presente descripción, se debe entender que cualquier intervalo de concentración, intervalo de porcentaje, intervalo de relación, o intervalo de números enteros incluye el valor de cualquier número entero dentro del intervalo mencionado y, cuando corresponda, fracciones de este (tal como una décima y una centésima de un número entero), a menos que se indique de otra forma. Debe entenderse que los términos “un” y “una” como se usan en la presente descripción se refieren a “uno o más” de los componentes enumerados a menos que se indique de otra forma. Debe entenderse que el uso de la alternativa (por ejemplo, “o”) significa uno, ambos, o cualquier combinación de estos de las alternativas. Como se usa en la presente descripción, los términos “incluir” y “comprender” se usan como sinónimos.

La invención se describirá adicionalmente en los siguientes ejemplos, que no limitan el alcance de la invención descrita en las reivindicaciones.

Tabla 1A. Secuencias ilustrativas de dominios de cabeza de unión a laminina de la proteína de integrina alfa

Secuencia de aminoácidos del dominio de cabeza de la integrina alfa7

FNLDVMGALRKEGEPGSLFGFSVALHRQLQPRPQSWLLVGAPQALALPGQQANRT
GGLFACPLSLEETDCYRVDIDQGADMQKESKENQWLGVSVRSQGPGGKIVTCAHR
YEARQRVDQILETRDMIGRCFVLSQDLAIRDELDDGGGEWKFCGRPQGHEQFGFCQ
QGTAAAFSPDSHYLLFGAPGTYNWKG TARVELCAQGSADLAHLDDGPYEAGGEKE
QDPRLIPVPANSYFGFSIDSGKGLVRAEELS FVAGAPRANHKGAVVILRKDSASRLV
PEVMLSGERLTSGFGYSLAVADLNSDGWPD LIVGAPYFFERQEELGGAVYVYLNQ
GGHWAGISPLRLCGSPDSMFGISLAVLGD LNQDGFDPDIAVGAPFDGDGKVFIYHGS
SLGVVAKPSQVLEGEAVGIKSFGYSLSGSLDMDGNQYPDLLVGSLADTAVLFRARPI
L (SEQ ID NO: 11)

Secuencia de aminoácidos del dominio de cabeza de la integrina alfa6

FNLDTREDNVIRKYGDPSLFGFSLAMHWQLQPEDKRLLL VGAPRAEALPLQRANR
TGGLYSCDITARGPCTRIEFDNDADPTSESKEDQWMGVT VQSQGPGGKVVTCAHR
YEKRQHVNTKQESRDIFGRCYVLSQNLRIEDDMDGGDWSFCDGRLRGHEKFGSC
QQGVAATFTKDFHYIVFGAPGTYNWKGIVRVEQKNNTFFDMNIFEDGPYEVGGETE
HDESLVPVPANSYLGFSLD SGKGIVSKDEITFVSGAPRANHSGAVVLLKRDMKSAHL
LPEHIFDGEGLASSFGYDVAVVDLNKDGWQDIVIGAPQYFDRDGEVGGAVYVYMN
QQGRWNNVKPIRLNGTKDSMFGITVKNIGDINQDGYPDIAVGAPYDDL GKVFIYHGS

ANGINTKPTQVLKGISPYFGYSIAGNMDLDRNSYPDVAVGSLSDSVTIFRSRPVI
(SEQ ID NO: 12)

Secuencia de aminoácidos del dominio de cabeza de la integrina alfa3

FNLDTFLVKEAGNPGSLFGYSVALHRQTERQQRYLLLAGAPRELAVPDGYTNRT
GAVYLCPLTAHKDDCERMNITVKNDPGHHIIEDMWLGVTVASQGPAGRVLVCAHRY
TQVLWSGSEDQRRMVGKCYVRGNDLELDSSDDWQTYHNEMCNSNTDYLETGMC
QLGTSGGFTQNTVYFGAPGAYNWKGNSYMIQRKEWDLSEYSYKDPEDQGNLYIGY
TMQVGSFILHPKNITIVTGAPRHRHMGAVFLLSQEAGGDLRRRQVLEGSQVGAYFG
SAIALADLNNDGWQDLLVGAPYYFERKEEVGGAIYVFMNQAGTSFPAHPSLLLHGP
SGSAFGLSVASIGDINQDGFQDIAVGAPFEGLGKVYIYHSSSKGLLRQPQQVIHGEK
LGLPGLATFGYSLSGQMDVDENFYDILLVGSLSHDIVLLRARPVI (SEQ ID NO: 13)

Tabla 1B. Secuencia ilustrativa del dominio de la proteína integrina alfa CALF-1

DNVCKPKLEVSVSDSQKKIYIGDDNPLTLIVKAQNGEGAYEAEIVSIPLQADFIGVV
RNNEALARLSCAFKTENQTRQVVC DLGNPMKAGTQLLAGLRFSVHQQSEMDTSVK
FDLQIQSSNLFDKVSPVVS HKVDLA (SEQ ID NO: 73)

Tabla 1C. Secuencia ilustrativa del dominio de la proteína integrina alfa CALF-2

VLA AVEIRGVSSPDHVFLPIPNWEHKENPETEEDVGPVVQHIYELRNNGPSSFSKA
MLHLQWPYKYNNNTLLYILHYDIDGPMNCTSDMEINPLRIKISSLQTTEKNDTVAGQ
GERDHLITKRDLALSEGDIHTLGCGVAQCLKIVCQVGRLDRGKSAILYVKSLLWTETF
MNKENQNHSYSLKSSASFNVIEFPYKNLPIEDITNSTLVTTNVTWGIQ (SEQ ID NO:
74)

EJEMPLOS

Ejemplo 1: El agonista de la proteína $\beta 1$ proporciona efectos compensatorios en células con una deficiencia de distrofina

Los mioblastos y miotubos de pacientes humanos sanos y con deficiencia de distrofina fueron tratados con el anticuerpo agonista de $\beta 1$ TS2/16 (J. Immunol, 1984, 132:3011). Se usaron ensayos de adhesión celular para evaluar la unión celular a la laminina a través de integrinas. Las microplacas se recubrieron durante toda la noche con merosina a 10 $\mu\text{g/ml}$ a 4 °C, y se bloquearon con 2 % de BSA/PBS durante 30 min antes del ensayo. Las células de mioblastos o miotubos se separaron y lavaron en PBS. Después de eso, las células se resuspendieron en IMEM a 1.0×10^6 células/ml, y cincuenta microlitros de suspensión celular y cincuenta microlitros de solución de anticuerpo se añadieron a la placa. Las placas se incubaron durante una hora a 37 °C

en dióxido de carbono al 5 % humidificado. Las células no adherentes se eliminaron mediante centrifugación con la parte superior hacia abajo a 58 g durante 5 min. Las células unidas se fijaron y se tiñeron con cristal violeta al 0.5 % (en metanol al 20 % y formaldehído al 1 %) y los pocillos se lavaron con PBS. El cristal violeta se disolvió en Triton-X al 2 % en PBS. La cantidad relativa de células en cada pocillo se evaluó mediante la absorbancia a 595 nm en un lector de microplacas (Tecan).

El tratamiento con TS2/16 promovió la adhesión de mioblastos humanos a la merosina (laminina) tanto en mioblastos sanos de control como en mioblastos deficientes en distrofina (Figura 1) y miotubos (Figura 2). La integrina $\alpha 7 \beta 1$ se regula positivamente al diferenciarse en miotubos. La adhesión de miotubos a la merosina puede aumentar mediante la activación de $\beta 1$. Las células de mioblastos humanos expresan múltiples integrinas de laminina en la superficie celular según lo determinado por FACS (Figuras 3 y 4). Principalmente la integrina $\alpha 7 \beta 1$ contribuyó al aumento de la adhesión celular mediada por activación de $\beta 1$ (Figura 5) ya que no fue inhibida por los anticuerpos de bloqueo funcional $\alpha 3$ y $\alpha 6$, pero fue bloqueada por un anticuerpo de bloqueo $\alpha 7$.

El anticuerpo agonista de $\beta 1$ TS2/16 también aumentó la adhesión de los miotubos a la laminina de manera dependiente de $\alpha 7 \beta 1$ en mioblastos murinos sanos en los que la expresión de la distrofina se atenuó con ARNip. Las células C2C12 (Nature, 1977, 270:725) son mioblastos murinos que expresan múltiples integrinas de laminina. Las células C2C12 expresan tres receptores de laminina ($\alpha 3$, $\alpha 6$ y $\alpha 7 \beta 1$) en su superficie (J Cell Sci, 1996, 109: 3139). La $\alpha 7 A$ es regulada positivamente durante la diferenciación del músculo esquelético. Los niveles de expresión de $\alpha 7$ en las células C2C12 aumentan durante la diferenciación muscular (Xiao y otros (2003) J. Biol. Chem., 278:49780-49788). Las células C2C12 se diferenciaron en miotubos (Figura 6). La expresión de la distrofina en los miotubos se atenuó mediante el uso de ARNip (Figura 7; Ghahramani Seno y otros (2008) Human Molecular Genetics, 17:2622-2632). TS2/16 aumentó la adhesión de los miotubos murinos a la laminina en miotubos murinos tratados con el ARNip de control y con el ARNip de distrofina (Figura 8A). Principalmente la integrina $\alpha 7 \beta 1$ contribuyó a la adhesión celular de miotubos murinos aumentada con TS2/16 a la laminina (Figura 8B).

Ejemplo 2: Generación de anticuerpos agonistas de $\alpha 7 \beta 1$

Se generaron anticuerpos monoclonales mediante la inmunización de ratones con el ectodominio proteico de integrina humana $\alpha 7 \beta 1$. Un esquema general del proceso se

muestra en la Figura 9. Los hibridomas se produjeron mediante técnicas estándar. A partir de un total de 9,000 clones, 110 clones se seleccionaron como aglutinantes de integrina $\alpha 7\beta 1$. Se identificaron múltiples anticuerpos antagonistas (de bloqueo) y cuatro anticuerpos agonistas (de activación) en ensayos celulares y de bioquímica funcional. Estos anticuerpos se caracterizaron como de activación o bloqueo en un ensayo de unión en fase sólida y un ensayo de adhesión celular. Los anticuerpos activadores se denominan M10, M25, M36 y M38. La Figura 10A muestra un ejemplo de resultados de un ensayo de unión en fase sólida, y la Figura 10B muestra un ejemplo de resultados de un ensayo de adhesión celular realizado con dos anticuerpos activadores (M10, M25) y un anticuerpo de bloqueo (M20). Los anticuerpos activadores se caracterizaron adicionalmente (por ejemplo, mediante ELISA o citometría de flujo) para determinar si la activación tiene lugar a través de la proteína $\alpha 7$ o la proteína $\beta 1$. Se encontró que M10 y M25 se unen a la proteína $\beta 1$ ya que los dos anticuerpos estimularon la unión no solo a la integrina $\alpha 7\beta 1$ sino también a la integrina $\alpha 6\beta 1$ y a la integrina $\alpha v\beta 1$ (Figura 10C).

Se encontró que los anticuerpos M36 y M38 se unen a las superficies celulares que expresan $\alpha 7\beta 1$ (tanto integrinas humanas (K562/ $\alpha 7X2$) como murinas (C2C12)). Véase la Figura 11A. La unión de M36 y M38 a la integrina $\alpha 7\beta 1$ humana y murina fue dependiente de la dosis y no mediada a través de la subunidad $\beta 1$ del heterodímero, ya que M36 y M38 no se unieron a la integrina $\alpha 6\beta 1$ o $\alpha 5\beta 1$ (Figura 11B).

La proteína integrina $\alpha 7$ puede tener dos secuencias extracelulares diferentes (designadas “X1” y “X2”) debido a la modificación postranscripcional. La secuencia de la región variable (X1 o X2) se ubica entre los dominios de repetición de homología III y IV cerca del supuesto sitio de unión al ligando (Figura 12A). Existen 40 aminoácidos en la secuencia de la región variable X2. Los anticuerpos M36 y M38 se unen preferentemente a las superficies celulares que expresan la forma $\alpha 7\beta 1$ X2 (Figura 12B), que se expresa preferentemente en células esqueléticas adultas. Debido a la especificidad de la unión en la isoforma $\alpha 7X2$, pero no en la isoforma $\alpha 7X1$, se concluye que M36 y M38 se unen específicamente a la subunidad $\alpha 7X2$ de la integrina de heterodímero $\alpha 7\beta 1$ (Figura 12B).

Se encontró que los anticuerpos M36 y M38 aumentan la adhesión mediada por la integrina $\alpha 7\beta 1$ de las células K562/ $\alpha 7x2\beta 1$ a la laminina (LN211). Los anticuerpos M36 y M38 aumentaron la adhesión celular de la integrina $\alpha 7\beta 1$ a la laminina humana

211 (CE50: 1.09 nM y 1.27 nM). Véase la Figura 13A. El anticuerpo de control M35 no tuvo ningún efecto. Los anticuerpos M36 y M38 aumentaron la adhesión de los miotubos de ratón, en los que la distrofina se ha atenuado, a la laminina. Véase la Figura 13B. Este efecto podría revertirse mediante un anticuerpo de bloqueo de $\alpha 7$. Se encontró que los anticuerpos M36 y M38 activan la integrina $\alpha 7 \beta 1$ a través de un cambio conformacional. El anticuerpo monoclonal 9EG7 se une selectivamente a las integrinas $\beta 1$ activadas (Bazzoni y otros, J Biol Chem. 1995; 270(43):25570-7). Mn^{2+} media la activación de la integrina $\beta 1$ y esto puede detectarse mediante 9EG7 (barra blanca, Figura 14). Como se muestra en la Figura 14, los anticuerpos M36 y M38 aumentan la unión de 9EG7 (barras de color gris oscuro y gris claro) con respecto al anticuerpo de control contra $\alpha 7$ (con funcional) (barra blanca), lo que indica un cambio de la integrina $\alpha 7 \beta 1$ a una conformación más activada.

Las regiones variables de cadena pesada y ligera de los anticuerpos M36 y M38 se secuenciaron y se encontró que eran idénticas. Estas secuencias se proporcionan en la Tabla 2.

Tabla 2. Secuencias de aminoácidos del anticuerpo M36 y del anticuerpo M38

HCDR1	GYNFTKYW	SEQ ID NO: 2
HCDR2	IYPGSSTS	SEQ ID NO: 3
HCDR3	VRGDD	SEQ ID NO: 4
LCDR1	ESVDNYGISF	SEQ ID NO: 5
LCDR2	AAS	SEQ ID NO: 6
LCDR3	HQSKEVPYT	SEQ ID NO: 7
VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYNFTKY WINWVKQRPGQGLEWIGIYIPGSSTSNEYKFKT KATLTVEISSTTAYMQLSSLTSDDSAVYYCVRGD DWGQGTTTLTVSS	SEQ ID NO: 8
VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGIS FMNWFQQKPGQPPKLLIYAASDLGSGVPARFTG SGSGTDFSLNIHPMEEDDSAMYFCHQSKEVPYT FGGGTKLEIK	SEQ ID NO: 9

Ejemplo 3: Generación y caracterización de anticuerpos humanizados agonistas de $\alpha 7 \beta 1$

La secuencia del anticuerpo M36/M38 se humanizó subsecuentemente. La secuencia de anticuerpos se analizó para determinar la estructura tridimensional y se construyó mediante modelación por homología. Se identificaron posiciones clave que respaldan la estructura de bucle de CDR y la interfaz VH-VL. Se diseñaron múltiples variantes humanizadas para las cadenas pesadas y ligeras. La humanidad de las variantes

humanizadas se evaluó mediante la puntuación de humanidad T20 descrita en Gao y otros, (2013) *BMC Biotechnology*, 13:55. Los anticuerpos humanizados, así como también una versión quimérica (regiones variables de roedor, regiones constantes humanas) se expresaron en la escala de 10 ml en células CHO (Proceso de TunaCHO™) y se purificaron. La afinidad de unión de cada anticuerpo producido se evaluó mediante citometría de flujo y ELISA.

Se aisló un anticuerpo humanizado denominado “VL3VHK20TFT”. Las secuencias de aminoácidos y nucleótidos de varias regiones de VL3VHK20TFT se proporcionan en la Tabla 3. VL3VHK20TFT pertenece al isotipo IgG4 y a la subclase S228P. El isotipo de cadena ligera de VL3VHK20TFT es kappa humana.

Tabla 3. Secuencias de aminoácidos y nucleótidos del anticuerpo VL3VHK20TFT

HCDR1	GYTFTKYW	SEQ ID NO: 14
HCDR2	IYPGSSTS	SEQ ID NO: 3
HCDR3	VKNDN	SEQ ID NO: 15
LCDR1	ESVDNYGISF	SEQ ID NO: 5
LCDR2	AAS	SEQ ID NO: 6
LCDR3	HQSKEVPYT	SEQ ID NO: 7
VH (las secuencias de CDR están subrayadas)	<u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTK</u> <u>YWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTS</u> <u>SNYNE</u> <u>KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVY</u> <u>YCVKNDNWGQGT</u> <u>LVTVSS</u>	SEQ ID NO: 16
VL (las secuencias de CDR están subrayadas)	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVDNY</u> <u>GISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASDLGSGVPS</u> <u>RFSGSGSGTDFTLT</u> <u>ISSLPEDFATYYCHQSK</u> <u>EVPTFTGQGTKLEIK</u>	SEQ ID NO: 17
Secuencia de aminoácidos de cadena pesada (la mutación S228P está en negrita)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTK YWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTS SNYNE KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVY YCVKNDNWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSL GTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG	SEQ ID NO: 18
Secuencia de aminoácidos de cadena ligera	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVDNY GISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASDLGSGVPS RFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYCHQSK EVPTFTGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS	SEQ ID NO: 19

	GNSQESVTEQDSKDYSLSSTLTLSKADYK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
Secuencia de nucleótidos de cadena pesada	ATGGACCCCAAGGGCAGCCTGAGCTGGAGA ATCCTGCTGTTCTGAGCCTGGCCTTCGAG CTGAGCTACGGCCAGGTGCAGCTGGTGCAG AGCGGTGCGGAAGTGAAGAAGCCCCGGTGC CAGCGTGAAGGTGAGCTGCAAGGCCAGCG GCTACACCTTCACCAAGTACTGGATCAACTG GGTGAGGCAGGCACCCGGCCAAGGCCTGG AGTGGATGGGCATCATCTACCCCGGCAGCA GCACCAGCAATTACAACGAGAAGTTCAAGA CCCGAGTAACCATGACCGTGGACACCTCCA CCAGCACCGCCTACATGGAGCTGAGCAGCC TGAGGAGCGAGGACACCGCAGTGTACTACT GCGTGAAGAACGACAACCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTGACCGTCAGCTCTGCTAGCACC AAGGGCCCCAGCGTGTTTCCTCTCGCTCCC TGCAGCCGGAGCACATCCGAGAGCACCGCT GCTCTGGGCTGTCTCGTGAAGGACTACTTC CCTGAACCCGTCACCGTCAGCTGGAATAGC GGCGCCCTGACATCCGGCGTCCACACATTC CCCGCTGTCCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCTCCGTGGTCACCGTGCCTAGC AGCAGCCTGGGAACAAAGACCTACACCTGC AACGTGGACCATAAGCCCTCCAACACCAAG GTGGACAAGCGGGTGAATCCAAGTATGGA CCCCCTGTCCTCCTTGCCCTGCTCCTGAAT TTCTCGGAGGCCCTCCGTCTTCCTGTTTCC CCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTC CCGGACACCCGAAGTCACCTGCGTCGTGGT GGATGTCAGCCAGGAAGATCCCGAGGTGCA GTTCAACTGGTACGTGGACGGAGTGGAGGT GCATAACGCCAAAACCAAGCCCAGGGAAGA GCAGTTCAACAGCACCTATCGGGTCTGTGC CGTGCTCACCGTCCTGCATCAGGATTGGCT CAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGTC CAACAAGGGCCTGCCCTCCTCCATCGAGAA GACCATCTCCAAGGCTAAGGGCCAACCTCG GGAGCCCCAAGTGTATACCCTCCCTCCCAG CCAGGAGGAGATGACCAAGAATCAAGTGAG CCTGACCTGCCTCGTGAAGGGATTTTACCC CTCCGACATCGCTGTGGAATGGGAAAGCAA TGGCCAACCTGAGAACAACCTACAAGACCAC ACCCCCCGTGCTGGACTCCGATGGCTCCTT CTTCCTGTACAGCAGGCTGACCGTGGACAA ATCCCGGTGGCAAGAGGGAAACGTGTTTCA CTGCTCCGTGATGCACGAGGCTCTCCACAA CCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGAG CCTCGGCTAG	SEQ ID NO: 20

Secuencia de nucleótidos de cadena ligera	ATGGAGACCGACACCCTGCTGCTCTGGGTG CTGCTGCTCTGGGTGCCCGGCTCCACCGGA GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGC CTGTCCGCTAGCGTAGGGCGACAGGGTCACC ATCACCTGTAGGGCCAGTGAGAGCGTGGAC AACTACGGCATCAGCTTTATGAACTGGTTCC AGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTG CTGATTTACGCCGCCAGCGACCTGGGCAGC GGCGTGCCCAAGTAGGTTGAGCGGCTCCGGT AGCGGCACCGACTTCACCCTGACTATCAGC TCTCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTAC TACTGCCACCAGAGCAAGGAGGTCCCCTAT ACCTTCGGCCAAGGCACCAAGTTGGAGATC AAGCGGACCGTGGCCGCCCCAGCGTGTT CATCTTCCCTCCCAGCGACGAGCAGCTGAA GTCTGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCT GAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGT GCAGTGGAAAGGTGGACAACGCCCTGCAGA GCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAG CAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTG AGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGAC TACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAG GTGACCCACCAGGGACTGTCTAGCCCCGTG ACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGCTAA	SEQ ID NO: 21
---	--	---------------

*Tenga en cuenta que las siguientes secuencias son idénticas: SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68.

Las condiciones para la unión y la selección de anticuerpos monoclonales y Fab mediante el uso de citometría de flujo de alto rendimiento se optimizaron mediante el uso de una proteína diana de tipo silvestre clonada en un vector patentado y expresada en células HEK-293T. La proteína diana es la integrina humana alfa-7 (ITGA7; ID de UniProt Q13683; SEQ ID NO: 24). La unión del anticuerpo monoclonal VL3VHK20TFT y el Fab de VL3VHK20TFT a células HEK-293T cotransfectadas (1:1) con el precursor de integrina beta-1 (ITGB1) y la subunidad de integrina alfa 7 (ITGA7) o con el vector solo (control negativo) se evaluó mediante citometría de flujo de alto rendimiento. Los anticuerpos 3C12, 6A11, A1-1a M20, y A1-1a M24 se usaron como controles positivos para la unión a ITGA7. Estos anticuerpos y los parámetros para la citometría de flujo de alto rendimiento se proporcionan en la Tabla 4.

Tabla 4. Parámetros experimentales optimizados para la citometría de flujo de alto rendimiento

Parámetro experimental	MAb de prueba	MAb de control	MAb de control	MAb de control	MAb de control
Tipo de célula	HEK-293T	HEK-293T	HEK-293T	HEK-293T	HEK-293T
Fijador	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno
Tampón de bloqueo	Suero de cabra al 10 %	Suero de cabra al 10 %	Suero de cabra al 10 %	Suero de cabra al 10 %	Suero de cabra al 10 %
Anticuerpo primario					
Nombre	VL3VHK20TFT	MAb 3C12	MAb 6A11	MAb M20	MAb M24
Diana	MAb	(MBL)	(MBL)	A1-1a	A1-1a
Conc. óptima	ITGA7	ITGA7	ITGA7	ITGA7	ITGA7
Incubación (25 °C)	0.5 µg/ml	0.5 µg/ml	2.0 µg/ml	0.13 µg/ml	0.5 µg/ml
	60 min	60 min	60 min	60 min	60 min
Anticuerpo secundario					
Diana	IgG humana	IgG de ratón	IgG de ratón	IgG de ratón	IgG de ratón
Conc. óptima	1:400 (3.75 µg/ml)	1:400 (3.75 µg/ml)	1:400 (3.75 µg/ml)	1:400 (3.75 µg/ml)	1:400 (3.75 µg/ml)
Incubación (25 °C)	30 min	30 min	30 min	30 min	30 min
Fabricante	Jackson Immuno-Research	Jackson Immuno-Research	Jackson Immuno-Research	Jackson Immuno-Research	Jackson Immuno-Research
Núm. de cat.	109-545-003	115-545-003	115-545-003	115-545-003	115-545-003
ID del anticuerpo	Anti-IgG humana de cabra AlexaFluor® 488 AffiniPure (H+L)	AlexaFluor® 488 AffiniPure Anticuerpo caprino anti-IgG de ratón (H+L)	AlexaFluor® 488 AffiniPure Anticuerpo caprino anti-IgG de ratón (H+L)	AlexaFluor® 488 AffiniPure Anticuerpo caprino anti-IgG de ratón (H+L)	AlexaFluor® 488 AffiniPure Anticuerpo caprino anti-IgG de ratón (H+L)
Tampón de lavado	PBS (Ca ²⁺ , Mg ²⁺ libre)	PBS (Ca ²⁺ , Mg ²⁺ libre)	PBS (Ca ²⁺ , Mg ²⁺ libre)	PBS (Ca ²⁺ , Mg ²⁺ libre)	PBS (Ca ²⁺ , Mg ²⁺ libre)
Señal:fondo	18:1	16:1	16:1	17:1	16:1

Los parámetros utilizados para la citometría de flujo de alto rendimiento con Fab de VL3VHK20TFT se proporcionan en la Tabla 5.

Tabla 5. Parámetros experimentales optimizados para la citometría de flujo de alto rendimiento.

Parámetro experimental	Fab. de prueba
Tipo de célula	HEK-293T
Fijador	Ninguno
Tampón de bloqueo	Suero de cabra al 10 %
Anticuerpo primario	
Nombre	Fab de VL3VHK20TFT

Diana	ITGA7
Conc. óptima	2.0 µg/ml
Incubación (25 °C)	60 min
Anticuerpo secundario	
Diana	F(ab') ₂ humano
Conc. óptima	1:200 (7.50 µg/ml)
Incubación (25 °C)	30 min
Fabricante	Jackson ImmunoResearch
Núm. de cat.	109-546-006
ID del anticuerpo	Anticuerpo caprino anti- fragmento F(ab') ₂ de IgG humana AlexaFluor® 488 AffiniPure
Tampón de lavado	PBS (Ca ²⁺ , Mg ²⁺ libre)
Señal:fondo	12:1

Como muestran la Figura 15 y la Figura 16, el mAb VL3VHK20TFT (Figura 15) y el Fab de VL3VHK20TFT (Figura 16) se unen selectivamente a células que contienen la proteína diana ITGA7 y no se unen a células que no contienen la diana (vector). Cada punto en la Figura 15 y la Figura 16 representa la media de cuatro réplicas. La concentración de selección óptima para cada anticuerpo o Fab (delineado en una caja) se determinó en función de los valores de señal sin procesar y los cálculos de señal a fondo.

Para mapear el epítipo de VL3VHK20TFT, se construyó una genoteca de barrido de alanina de la proteína diana (ITGA7; SEQ ID NO: 24). El mapeo de epítipos mediante mutagénesis con pistola se realizó mediante el uso del procedimiento general descrito en Davidson y Doranz, 2014, Immunology 143, 13-20. Brevemente, se creó una genoteca de mutaciones de la proteína diana mediante mutagénesis de alto rendimiento, dirigida al sitio. Cada residuo se mutaba individualmente a alanina, con codones de alanina mutados a serina. La genoteca de mutantes se dispuso en microplacas de 384 pocillos y se transfectó transitoriamente en células HEK-293T. Después de la transfección, las células se incubaron con los anticuerpos indicados (Fab de VL3VHK20TFT o anticuerpo monoclonal 6A11 (mAb)) a concentraciones predeterminadas mediante el uso de una curva de titulación de inmunofluorescencia independiente en proteína de tipo silvestre. Los anticuerpos se detectaron mediante el uso de un anticuerpo secundario conjugado con Alexa Fluor 488, y se determinó la media de la fluorescencia celular mediante el uso de la plataforma de citometría de

flujo Intellicyt® iQue. Los residuos mutados se identificaron como críticos para el epítipo de Fab de VL3VHK20TFT si no respaldaban la reactividad del Fab de VL3VHK20TFT pero sí respaldaban la reactividad del mAb 6A11 de referencia. Esta estrategia de contraselección facilita la exclusión de mutantes que están mal plegados localmente o que tienen un defecto de expresión.

Las selecciones de genoteca de MAb de muy alta afinidad a veces no logran producir residuos críticos para la unión del anticuerpo. La conversión de un MAb de alta afinidad a un Fab generalmente debilita la unión lo suficiente para permitir la identificación de residuos críticos para la unión. En los casos en los que las selecciones de Fab en condiciones estándar todavía son insuficientes para identificar residuos críticos para la unión, se implementan condiciones de alta rigurosidad. Estas condiciones incluyen combinaciones de aumento del pH, aumento de la salinidad, aumento de la temperatura y/o aumento del tiempo de lavado. Los anticuerpos que requirieron condiciones de alta rigurosidad se denotan como “HS”.

La unión de Fab de VL3VHK20TFT y mAb 6A11 a cada clon mutante en una genoteca de escaneo de alanina de mutantes de ITGA7, se determinó por duplicado, mediante citometría de flujo de alto rendimiento. Para cada punto, la fluorescencia de fondo se sustrajo de los datos sin procesar, que luego se normalizaron con respecto a la reactividad del anticuerpo (Ab) con la proteína diana de tipo silvestre (WT). Para cada clon mutante, el valor de unión medio se graficó como una función de expresión (representada por la reactividad de control). Para identificar clones críticos primarios preliminares (círculos rojos), se aplicó un umbral (líneas discontinuas) de >70 % de la unión del tipo silvestre respecto al Ab de control y <20 % de la unión del tipo silvestre respecto al Ab de prueba. Los clones secundarios (círculos azules) se resaltan para los clones que no cumplieron con los umbrales establecidos pero cuya actividad de unión reducida y proximidad a residuos críticos sugirieron que el residuo mutado puede ser parte del epítipo del anticuerpo. La Figura 17 muestra un gráfico que contiene clones críticos primarios y clones secundarios.

Los residuos críticos para la unión a anticuerpos se enumeran en la Tabla 6. Las reactividades de unión medias (y los intervalos) se enumeran para todos los residuos críticos identificados. Los residuos críticos para la unión a Ab (S977, W978, W979, P980) fueron residuos cuyas mutaciones fueron negativas para la unión a los Ab de prueba, pero positivas para la unión al anticuerpo de control. Se identificaron residuos secundarios adicionales (R958, M976) que no cumplieron con las pautas del umbral,

pero cuya actividad de unión reducida y proximidad a residuos críticos sugirieron que podrían ser parte del epítipo del anticuerpo.

Los residuos críticos (esferas rojas) se visualizaron en un modelo de estructura cristalina de la proteína diana, basado en una estructura de integrina alfa(x)beta(2) (PDB ID# 3K71 en Xie y otros, 2010, *Embo. J.* 29, 666-679) como se muestra en la Figura 18. También se muestran los residuos secundarios (esferas azules) que pueden contribuir a la unión. Un residuo (R958) no está disponible en el modelo. Los residuos críticos cuya mutación proporcionó las reactividades más bajas con el Fab de VL3VHK20TFT están subrayados en la Tabla 6. Los residuos críticos validados representan aminoácidos cuyas cadenas laterales hacen las contribuciones más energéticas a la interacción anticuerpo-epítipo (Bogan y Thorn, 1998, *J. Mol. Biol.* 280, 1-9; Lo Conte y otros, 1999, *J. Mol. Biol.* 285, 2177-2198.); por lo tanto, los residuos resaltados (S977, W978, W979, P980) son probablemente los principales contribuyentes energéticos a la unión.

Tabla 6. Residuos críticos para la unión de anticuerpos

Reactividad de unión (% respecto al natural)		
Mutación	Fab de VL3VHK20TFT HS	MAb 6A11
R958A	27.8 (0)	114.3 (66)
M976A	29.5 (7)	149.4 (45)
<u>S977A</u>	8.0 (1)	97.6 (44)
<u>W978A</u>	-0.3 (0)	96.4 (32)
<u>W979A</u>	-0.7 (2)	87.9 (17)
<u>P980A</u>	1.1 (0)	111.8 (67)

Tabla 7. Secuencia de aminoácidos de integrina humana alfa-7 (ITGA7; UniProt ID Q13683)

MAGARSRDPWGASGICYLFGSLLVELLFSRAVAFNLDVMGALRKEGEPGSLFGFSVALHR
 QLQPRPQSWLLVGAPQALALPGQQANRTGGLFACPLSLEETDCYRVDIDQGADMQKESKE
 NQWLGVSVRSQGPGGKIIVTCAHRYEARQRVDQILETRDMIGRCFVLSQDLAIRDELDDGGE
 WKFCEGRPQGHEQFGFCQQGTAAAFSPDSHYLLFGAPGTYNWKG TARVELCAQGSADLAH
 LDDGPYEAGGEKEQDPRLIPVPANSYFGLLFVTNIDSSDPDQLVYKTLDPADRLPGPAGD
 LALNSYLGFSDSGKGLVRAEELSFVAGAPRANHKGAVVILRKDSASRLVPEVMLSGERL
 TSGFGYSLAVADLNSDGWPD LIVGAPYFFERQEELGGAVYVYLNQGGHWAGISPLRLCGS
 PDSMFGISLAVLGD LNQDGFDPDI AVGAPFDGDGKVFIYHGSSLGVVAKPSQVLEGEAVGI
 KSFGYSLSGSLDMDGNQYPDLLVGSLADTAVLFRARPILHVSHEVSIAPRSIDLEQPNCA
 GGHSVCVDLRVCFSYIAVPSSYSPTVALDYVLDADTDRLRGQVPRVTFLSRNLEEPKHQ

ASGTVWLKHQHDRVCGDAMFQLQENVKDKLRRAIVVTLSSYSLQTPRLRRQAPGQGLPPVAP
 ILNAHQPSTQRAEIHFLKQGCGEDKICQSNLQLVRARFCTRVSDTEFQPLPMDVDGTTAL
 FALSGQPVIGLELMVTNLPSPDPAQPQADGDDAHEAQLLVMLPDSLHYSQVRLDPAEKPL
 CLSNENASHVECELGNPMKRGAQVTFYLILSTSGISIIETTELEVELLATISEQELHPVS
 ARARVFIELPLSIAGMAIPQQLFFSGVVRGERAMQSERDVGSKVKYEVTVSNNQGGSLRTL
 GSAFLNIMWPHEIANGKWLLYPMQVELEGGQGPQKGLCSPRPNILHLDVDSRDRRRREL
 EPPEQQEPGERQEPSMSWWPVSSAEKKKNITLDCARGTANCVVFSCLYSFDRAAVLHVW
 GRLWNSTFLEEYSVKSLEVIVRANITVKSSIKNLMLRDASTVIPVMVYLDPMVVAEGV
 PWWVILLAVLAGLLVLALLVLLLWKMGGFFKRAKHPEATVPQYHAVKIPREDRQQFKKEKT
 GTILRNNWGSPPREGPDAPILAADGHPELGPDGHPGPGTA(SEQ ID NO: 24)

Ejemplo 4: Evaluación de anticuerpos de ratón y humanizados contra la integrina $\alpha\beta 1$

Se evaluó la unión de anticuerpos a la integrina $\alpha\beta 1$ humana y de ratón. Se encontró que el anticuerpo $\alpha\beta 1$ de ratón VLVH (Quimera con Fc de IgG4 humana, también denominado hIgG4-23 en la Tabla 10) y el anticuerpo contra $\alpha\beta 1$ humanizado VL3VHK20TFT reaccionan de manera cruzada con la integrina $\alpha\beta 1$ humana y de ratón. Una comparación de la medición de afinidad enumerada en la Tabla 8 muestra que el anticuerpo humanizado VL3VHK20TFT tuvo una KD más baja para unirse a la integrina $\alpha\beta 1$ tanto humana como de ratón. El anticuerpo humanizado tuvo una KD aproximadamente 3.33 veces menor para la unión a la $\alpha\beta 1$ humana y una KD aproximadamente 11.1 veces menor para la unión a la integrina $\alpha\beta 1$ de ratón. Estos datos muestran una mejora de afinidad sustancial general para el anticuerpo humanizado VL3VHK20TFT sobre el anticuerpo quimera con la región Fab de hibridoma de ratón. La Figura 19 es un gráfico que muestra los resultados a varias concentraciones para VL3VHK20TFT; 0.25 $\mu\text{g/ml}$ de integrina $\alpha\beta 1$ humana; unión 1:1. La Figura 20 es un gráfico que muestra los resultados a varias concentraciones para VLVH; 0.25 $\mu\text{g/ml}$ de integrina $\alpha\beta 1$ humana; unión 1:1. La Figura 21A es un gráfico que muestra los resultados en varias concentraciones para VL3VHK20 TFT; 0.25 $\mu\text{g/ml}$ integrina $\alpha\beta 1$ de ratón; unión 1:1. La Figura 21B es un gráfico que muestra los resultados en diversas concentraciones para VLVH; 0.25 $\mu\text{g/ml}$ de integrina $\alpha\beta 1$ de ratón; unión 1:1.

La unión de anticuerpos a la integrina $\alpha\beta 1$ de la superficie celular se evaluó mediante citometría de flujo. Las células K562 que expresan la integrina $\alpha\beta 1$ humana se usaron para la unión a anticuerpos VL3VHK20TFT. La Figura 22A es un gráfico que muestra

la unión a la superficie celular del anticuerpo a varias concentraciones. Se encontró que el anticuerpo VL3VHK20TFT aumenta la adhesión a la laminina mediada tanto por la $\alpha 7\beta 1$ humana (Figura22B) como por $\alpha 7\beta 1$ murina (Figura22C).

Tabla 8: Evaluación de anticuerpos de ratón y humanizados contra la integrina $\alpha 7\beta 1$

Modelo de cinética	Solución de captura 1	Solución del analito 1	Chi ² de cinética (RU ²)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
Unión 1:1	0.25 µg/ml de integrina $\alpha 7\beta 1$ humana	VL3VHK20TFT	1.11E-01	2.58E+05	1.53E-04	5.93E-10
Unión 1:1	0.25 µg/ml de integrina $\alpha 7\beta 1$ humana	VLVH	7.36E-03	3.33E+05	6.52E-04	1.96E-09
Unión 1:1	0.25 µg/ml de integrina $\alpha 7\beta 1$ de ratón	VL3VHK20TFT	6.85E-03	2.39E+05	4.69E-04	1.96E-09
Unión 1:1	0.25 µg/ml de integrina $\alpha 7\beta 1$ de ratón	VLVH	6.70E-03	9.76E+04	2.13E-03	2.18E-08

Ejemplo 5: Anticuerpo agonista de $\alpha 7\beta 1$ aumentó la adhesión de mioblastos de DMD a la laminina

Método: Se midió el monitoreo en tiempo real del reacoplamiento celular a partir de la suspensión mediante el uso de un ensayo de impedancia eléctrica con un dispositivo de detección de células en tiempo real xCELLigence RTCA SP. Las células mioblásticas de la DMD se sembraron en placas E recubiertas con laminina 211. Las células se trataron con anticuerpos respectivamente. La tasa de unión se expresó como el índice de células, con valores expresados como el índice de células $\pm$ DE de pocillos por triplicado.

Resultados: La Figura 23 es un gráfico que muestra la concentración de anticuerpos en µg/ml frente al índice celular (adhesión celular mediada por la integrina $\alpha 7\beta 1$) tanto para la adhesión de mioblastos aumentada por el anticuerpo murino (VLVH) como por el anticuerpo humanizado (VL3VHK20TFT) a la laminina. El anticuerpo humanizado fue aproximadamente 5 veces más potente que el anticuerpo murino.

Ejemplo 6: el anticuerpo agonista de $\alpha 7\beta 1$ protege el músculo gastrocnemio de las lesiones

Método: Se establecieron cuatro grupos de prueba murinos: un control de DBA2/IgG, un mdx/control de IgG, un anticuerpo de mdx/agonista a 3 mg/kg y un anticuerpo de

mdx/agonista a 15 mg/kg. El rendimiento muscular se midió *in vivo* con un sistema de palanca muscular de 305C. La rodilla se aisló mediante el uso de un clavo presionado contra la cabeza tibial y el pie firmemente fijado a una placa de soporte en el eje del motor. Para el grupo del músculo flexor plantar, las contracciones se produjeron por la estimulación eléctrica percutánea del nervio ciático. Se administró una serie de 20 estimulaciones tetánicas (80 Hz, pulso de 0.2 ms, duración de 500 ms) a una frecuencia de 0.1 Hz. El pie se giró contra la dirección de la contracción 10° durante 250 ms, lo que dio como resultado una contracción excéntrica.

Resultados: La Figura 24 es un gráfico que muestra la contracción frente a la fuerza (normalizada con respecto a la contracción inicial) para el DBA2/control de IgG, el mdx/control de IgG, el mdx/anticuerpo agonista a 3 mg/kg, y el mdx/anticuerpo agonista a 15 mg/kg. La fuerza para los ratones con mdx disminuyó mucho más que los ratones de control sanos (DBAS). El tratamiento con el anticuerpo agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$ protegió contra el daño excéntrico con ambas dosis (3 mg/kg y 15 mg/kg).

Ejemplo 7: Función del diafragma mejorada por el anticuerpo agonista de $\alpha 7\beta 1$

Método: Mediante el uso de los cuatro grupos murinos del Ejemplo 6, se midió el rendimiento muscular *in vitro* con un sistema de palanca muscular 305C (Aurora Scientific Inc., Aurora, CAN) adaptado con un baño de perfusión horizontal. Todo el diafragma se colocó en el baño horizontal del sistema de palanca muscular 305C y se perfundió con tampón fisiológico oxigenado con O₂ al 95 %/CO₂ al 5 % y se mantuvo a 37 °C. Se administró una serie de estimulaciones de campo de 1 Hz y 100 Hz (pulso de 0.2 ms, duración de 100 ms) a una frecuencia de 0.01 Hz a través de electrodos de platino que flanqueaban el músculo para garantizar que las suturas estuvieran ajustadas y que la fuerza máxima desarrollada fuera estable.

Resultados: La Figura 25 es un gráfico que muestra la frecuencia de estimulación en Hz frente a la fuerza (normalizada con respecto al ancho del músculo, mN/mm) para el DBA2/control de IgG, el mdx/control de IgG, el mdx/anticuerpo agonista a 3 mg/kg, y el mdx/anticuerpo agonista a 15 mg/kg. La fuerza de los ratones mdx disminuyó mucho más que la de los ratones de control sanos (DBAS). El tratamiento con el anticuerpo agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$ protegió contra la lesión excéntrica con ambas dosis (3 mg/kg y 15 mg/kg).

Ejemplo 8: El tratamiento con anticuerpos agonistas de $\alpha 7\beta 1$ mejora los biomarcadores

Método: Se midieron varios biomarcadores asociados con el daño distrófico muscular en ratones y se determinó que mejoraron con el tratamiento.

La Figura 26 es un gráfico de barras que muestra la cantidad de creatina cinasa sérica, un biomarcador para el daño muscular, en el DBA2/control de IgG, el mdx/control de IgG, y el tratamiento con el anticuerpo agonista M36. El tratamiento con el anticuerpo agonista M36 redujo sustancialmente la creatina cinasa sérica en comparación con el mdx/control de IgG.

La Figura 27 es un gráfico de barras que muestra la cantidad de troponina esquelética, un biomarcador para el daño muscular, en el DBA2/control de IgG, el mdx/control de IgG, y el tratamiento con el anticuerpo agonista M36. El tratamiento con el anticuerpo agonista M36 redujo sustancialmente la troponina esquelética en comparación con el mdx/control de IgG.

La Figura 28 es un gráfico de barras que muestra la cantidad de O-hidroxiprolina, una medida de la formación de colágeno/fibrosis en el músculo gastrocnemio en el DBA2/control de IgG, el mdx/control de IgG, y el tratamiento con el anticuerpo agonista M36. El tratamiento con el anticuerpo agonista M36 redujo sustancialmente la formación de colágeno/fibrosis, según lo determinado por la O-hidroxiprolina en comparación con el mdx/control de IgG.

Ejemplo 9: Propiedades mejoradas de los anticuerpos agonistas de $\alpha 7\beta 1$ modificados

Las sustituciones de aminoácidos, como se muestra en la Figura 29, se generaron por mutagénesis dirigida al sitio de secuencias del anticuerpo VL3VHK20TFT (secuencias originales proporcionadas en la Tabla 3) y se evaluaron para determinar la capacidad de reducir la poliespecificidad del anticuerpo. Como se muestra además aquí, algunas de las variantes que incluyeron hIgG-38 en la región variable de la cadena pesada, e hIgG-44, 45 y 46 en la región variable de la cadena ligera retuvieron la actividad de unión a la integrina $\alpha 7\beta 1$ (Figura30). Se usó un enfoque basado en ELISA que emplea las proteínas de membrana presentadas en la superficie de una partícula de baculovirus (BVP) como reactivo para capturar anticuerpos con propensión a la interacción cruzada. La cromatografía de interacción hidrófoba (HIC) se usó como técnica analítica para sondear la hidrofobicidad del anticuerpo. Se demostró que hIgG-38, 44 y 45 tienen propiedades biofísicas más favorables, como se muestra en la Tabla 9. Las secuencias de estos anticuerpos se proporcionan en la Tabla 11, Tabla 12 y Tabla 13.

Tabla 9: Puntajes de BVP e HIC para variantes de anticuerpos humanizados

	BVP	HIC
hlgG-36	12.5	16.29
hlgG-38	3.8	12.43
hlgG-44	6.4	8.19
hlgG-45	7.5	8.26
hlgG-46	18.1	12.01

Ejemplo 10: Anticuerpos agonistas de $\alpha 7\beta 1$ adicionales

La Tabla 10 muestra un intervalo de anticuerpos IgG agonistas de $\alpha 7\beta 1$ preparados a partir de combinaciones de cadenas pesadas y cadenas ligeras cuyas secuencias de aminoácidos se proporcionan después de la Tabla 10.

Las secuencias de cadena pesada VHK2, VHK4, VHK11, VHK12, VHK14, VHK20, VHK22, VHK33, VHK48, y VHK51 son secuencias de cadena pesada humanizadas que comprenden variación en la secuencia de HCDR3. Las secuencias de cadena pesada VHK20TFT-A a VHK20TFT-F comprenden la variación en las secuencias HCDR1 y HCDR2. Las secuencias de cadena ligera VL1 – VL10 son secuencias de cadena kappa humanizadas. Las secuencias de cadena ligera VL11, VL12 y VL13 comprenden variación en la secuencia de LCDR1. Las secuencias denominadas “VH” y “VL” son moléculas quiméricas que comprenden regiones variables de M36 de IgG murina y regiones constantes de IgG4 humana.

Tabla 10: Anticuerpos IgG contra $\alpha 7\beta 1$ ilustrativos

Nombre del anticuerpo humano	del IgG	Secuencia de cadena ligera	Secuencia de cadena pesada	Otro nombre para el anticuerpo
hlgG4-1		VL1	VHK33	VL1VHK33
hlgG4-2		VL1	VHK20	VL1VHK20
hlgG4-3		VL1	VHK22	VL1 VHK22
hlgG4-4		VL1	VHK48	VL1 VHK48
hlgG4-5		VL1	VHK14	VL1 VHK14
hlgG4-6		VL1	VHK7	VL1 VHK7
hlgG4-7		VL1	VHK51	VL1 VHK51
hlgG4-8		VL1	VHK11	VL1 VHK11
hlgG4-9		VL1	VHK2	VL1 VHK2
hlgG4-10		VL1	VHK4	VL1 VHK4
hlgG4-11		VL2	VHK33	VL2 VHK33
hlgG4-12		VL2	VHK20	VL2 VHK20
hlgG4-13		VL2	VHK22	VL2 VHK22
hlgG4-14		VL2	VHK48	VL2 VHK48
hlgG4-15		VL2	VHK14	VL2 VHK14
hlgG4-16		VL2	VHK7	VL2 VHK7

hlgG4-17	VL2	VHK51	VL2 VHK51
hlgG4-18	VL2	VHK11	VL2 VHK11
hlgG4-19	VL2	VHK2	VL2 VHK2
hlgG4-20	VL2	VHK4	VL2 VHK4
hlgG4-21	VL1	VHK12	VL1 VHK12
hlgG4-22	VL2	VHK12	VL2 VHK12
hlgG4-23	VL	VH	VL VH
hlgG4-24	VL1	VH3	VL1 VH3
hlgG4-25	VL2	VH3	VL2 VH3
hlgG4-26	VL	VHK20	VL VHK20
hlgG4-27	VL	VH3	VL VH3
hlgG4-28	VL3	VHK20	VL3 VHK20
hlgG4-29	VL4	VHK20	VL4 VHK20
hlgG4-30	VL5	VHK20	VL5 VHK20
hlgG4-31	VL6	VHK20	VL6 VHK20
hlgG4-32	VL7	VHK20	VL7 VHK20
hlgG4-33	VL8	VHK20	VL8 VHK20
hlgG4-34	VL9	VHK20	VL9 VHK20
hlgG4-35	VL10	VHK20	VL10 VHK20
hlgG4-36	VL3	VHK20TFT	VL3 VHK20TFT
hlgG4-37	VL3	VHK20NTA	VL3 VHK20NTA
hlgG4-38	VL3	VHK20TFT-A	VL3 VHK20TFT-A
hlgG4-39	VL3	VHK20TFT-B	VL3 VHK20TFT-B
hlgG4-40	VL3	VHK20TFT-C	VL3 VHK20TFT-C
hlgG4-41	VL3	VHK20TFT-D	VL3 VHK20TFT-D
hlgG4-42	VL3	VHK20TFT-E	VL3 VHK20TFT-E
hlgG4-43	VL3	VHK20TFT-F	VL3 VHK20TFT-F
hlgG4-44	VL11	VHK20TFT	VL11 VHK20TFT
hlgG4-45	VL12	VHK20TFT	VL12 VHK20TFT
hlgG4-46	VL13	VHK20TFT	VL13 VHK20TFT
hlgG4-47	VL13	VHK20TFT-F	VL13 VHK20TFT-F
hlgG4-48	VL	VHK20TFT	VL VHK20TFT
hlgG4-49	VL3	VH	VL3 VH

Secuencias de cadena pesada (las porciones subrayadas en cada secuencia son, en orden, HCDR1, HCDR2 y HCDR3)

VHK33

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFTKYWINWVRQAPGGLEWMGIIYPGSSTSNYNE
KFKTRVTMTVDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRGDEWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS
SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE

YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 31)

VHK20

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFTKYWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTSSNYNE
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCVKNDNWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 32)

VHK22

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFTKYWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTSSNYNE
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCVKNDVWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 33)

VHK48

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFTKYWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTSSNYNE
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCVRRDNWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 34)

VHK14

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFTKYWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTSSNYNE
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCVKGDVWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS

SLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 35)

VHK7

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASSGYNFTKYWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTSSNYNE
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCVKGDKGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS
SLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 36)

VHK51

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASSGYNFTKYWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTSSNYNE
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCVRRDTWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS
SLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 37)

VHK11

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASSGYNFTKYWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTSSNYNE
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCVKGDQWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS
SLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 38)

VHK2

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFTKYWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTSSNYNE
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCVKGDAWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 39)

VHK4

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFTKYWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTSSNYNE
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCVKGDEWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 40)

VHK12

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFTKYWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTSSNYNE
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCVKGDSWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 41)

VH

QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYNFTKYWINWVKQRPGQGLEWIGIIYPGSSTS
SNYNE KFKTKATLTVEISSTTAYMQLSSLTSDSAVYYCCVRGDDWGQTTTLTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

WESNGQPENNYKTTTPVLDSGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 42)

VH3

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFTKYWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTS^{NYNE}
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVRGDDWGQGT^{LVTVSSASTKGPSVFPLA}
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV^{PSS}
SLGTKITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 43)

VHK20NFA

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFAKYWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTS^{NYNE}
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVKNDNWGQGT^{LVTVSSASTKGPSVFPLA}
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV^{PSS}
SLGTKITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 44)

VHK20TFT-A

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYHINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTS^{NYNE}
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVKNDNWGQGT^{LVTVSSASTKGPSVFPLA}
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV^{PSS}
SLGTKITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 45)

VHK20TFT-B

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYNINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTS^{NYNE}
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCVKNDNWGQGT^{LVTVSSASTKGPSVFPLA}
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV^{PSS}
SLGTKITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT

PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 46)

VHK20TFT-C

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWINWVRQAPGGGLEWMGTIQPGSSTSNYNE
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCVKNDNWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 47)

VHK20TFT-D

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWINWVRQAPGGGLEWMGTIHPGSSTSNYNE
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCVKNDNWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 48)

VHK20TFT-E

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTKYWINWVRQAPGGGLEWMGTINPGSSTSNYNE
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCVKNDNWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLA
PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 49)

VHK20TFT-F

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWRQAPGGGLEWMGTIIYPGSSTSNYNE
KFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCVKNDNWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLA

PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLS
LSLG (SEQ ID NO: 50)

Secuencias de cadena ligera (las porciones subrayadas en cada secuencia son, en
orden, LCDR1, LCDR2 y LCDR3)

VL1

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVDNYGISFMNWYQQKPGKAPKLLIYAAASDLGSGV
PSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCHQSKEVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLS
KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 51)

VL2

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASESVDNYGISFMNWYQQKPGKAPKLLIYAAASDLGSGV
PSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCHQSKEVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLS
KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 52)

VL3

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAAASDLGSGV
PSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCHQSKEVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLS
KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 53)

VL4

DIQLTQSPSSLSVSVGDRATITCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAAASDLGSGV
PSRFGSGSGTDFTLTISMQPEDFATYYCHQSKEVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLS
KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 54)

VL5

DIQLTQSPSSLSVSVGDRATITCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAAASDLGSGV
PSRFGSGSGTDFTLTISMQPEDSATYYCHQSKEVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLS
KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 55)

VL

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASEESVDNYGISFMNWFQQKPGQPPKLLIYAASDLGSGV
PARFTGSGSGTDFSLNIHPMEEDDSAMYFCHQSKEVPTYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 56)

VL6

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASEESVDNYGISFMNWYQQKPGKAPKLLIYAASDLGSGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCHQSKEVPTYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 57)

VL7

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASEESVDNYGISFMNWYQQKPGKAPKLLIYAASDLGSGV
PSRFTGSGSGTDFSLTISLQPEDFATYFCHQSKEVPTYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 58)

VL8

DIQLTQSPSSLSVSVGDRATITCRASEESVDNYGISFMNWYQQKPGKAPKLLIYAASDLGSGV
PSRFTGSGSGTDFSLTISSMQPEDFATYFCHQSKEVPTYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 59)

VL9

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASEESVDNYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASDLGSGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCHQSKEVPTYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 60)

VL10

DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCRASEESVDNYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASDLGSGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCHQSKEVPTYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 61)

VL11

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASEESVDNQGTSYMNWFQQKPGKAPKLLIYAASDLGSGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCHQSKEVPTYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 62)

VL12

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEESVDNSGTSYMNWFQQKPGKAPKLLIYAASDLGSGV
 PSRFGSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHQSKEVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
 SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLS
 KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 63)

VL13

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNSFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASDLGSGV
 PSRFGSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCHQSKEVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
 SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLS
 KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 64)

Tabla 11. Secuencias de aminoácidos del anticuerpo hlgG-38

HCDR1	GYTFTKYH	SEQ ID NO: 65
HCDR2	IYPGSSTS	SEQ ID NO: 3
HCDR3	VKNDN	SEQ ID NO: 66
LCDR1	ESVDNYGISF	SEQ ID NO: 5
LCDR2	AAS	SEQ ID NO: 6
LCDR3	HQSKEVPYT	SEQ ID NO: 7
VH (las secuencias de CDR están subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT <u>KYHINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTS</u> NEKFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSED AVYYC <u>VKNDN</u> WGQGTLLTVSS	SEQ ID NO: 67
VL (las secuencias de CDR están subrayadas)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASE <u>ESVDN</u> <u>YGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASDLGSGV</u> PSRFGSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCH <u>QSKEVPYTFGQGTKLEIK</u>	SEQ ID NO: 17
Secuencia de aminoácidos de cadena pesada (IgG4) (las secuencias de CDR están subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT <u>KYHINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTS</u> NEKFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSED AVYYC <u>VKNDN</u> WGQGTLLTVSSASTKGPSVF PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLG	SEQ ID NO: 45
Secuencia de aminoácidos de cadena	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASE <u>ESVDN</u> <u>YGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASDLGSGV</u> PSRFGSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCH	SEQ ID NO: 53

ligera (las secuencias de CDR están subrayadas)	QSKEVPYTFGQGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC	
---	---	--

Tabla 12. Secuencias de aminoácidos del anticuerpo hlgG-44

HCDR1	GYTFTKYW	SEQ ID NO: 14
HCDR2	IYPGSSTS	SEQ ID NO: 3
HCDR3	VKNDN	SEQ ID NO: 68
LCDR1	ESVDNQGTSY	SEQ ID NO: 69
LCDR2	AAS	SEQ ID NO: 6
LCDR3	HQSKEVPYT	SEQ ID NO: 7
VH (las secuencias de CDR están subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT <u>KYWINWVRQAPGQGLEWMGIYPGSSTS</u> <u>SNY</u> NEKFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCVKNDNWGGGTLTVSS	SEQ ID NO: 16
VL (las secuencias de CDR están subrayadas)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASE <u>SV</u> <u>DN</u> <u>QGTSYMNWFQQKPGKAPKLLIYAASDLGSG</u> VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC <u>HQSKEVPYTFGQGGTKLEIK</u>	SEQ ID NO: 70
Secuencia de aminoácidos de cadena pesada (IgG4) (las secuencias de CDR están subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT <u>KYWINWVRQAPGQGLEWMGIYPGSSTS</u> <u>SNY</u> NEKFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCVKNDNWGGGTLTVSSASTKGPSVF PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLG	SEQ ID NO: 18
Secuencia de aminoácidos de cadena ligera (las secuencias de CDR están subrayadas)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASE <u>SV</u> <u>DN</u> <u>QGTSYMNWFQQKPGKAPKLLIYAASDLGSG</u> VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC <u>HQSKEVPYTFGQGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP</u> <u>SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV</u> DNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC	SEQ ID NO: 62

Tabla 13. Secuencias de aminoácidos del anticuerpo hIgG-45

HCDR1	GYTFTKYW	SEQ ID NO: 14
HCDR2	IYPGSSTS	SEQ ID NO: 3
HCDR3	VKNDN	SEQ ID NO: 68
LCDR1	ESVDNSGTSY	SEQ ID NO: 71
LCDR2	AAS	SEQ ID NO: 6
LCDR3	HQSKEVPYT	SEQ ID NO: 7
VH (las secuencias de CDR están subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT KYWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTS NEKFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCVKNDNWGQGLTVTVSS	SEQ ID NO: 16
VL (las secuencias de CDR están subrayadas)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVDN SGTSYMNWFQQKPGKAPKLLIYAASDLGSG VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC HQSKEVPYTFGQGTKLEIK	SEQ ID NO: 72
Secuencia de aminoácidos de cadena pesada (IgG4) (las secuencias de CDR están subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT KYWINWVRQAPGQGLEWMGIIYPGSSTS NEKFKTRVTMTVDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCVKNDNWGQGLTVTVSSASTKGPSVF PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSLG	SEQ ID NO: 18
Secuencia de aminoácidos de cadena ligera (las secuencias de CDR están subrayadas)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVDN SGTSYMNWFQQKPGKAPKLLIYAASDLGSG VPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC HQSKEVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLT LTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC	SEQ ID NO: 63

Cada documento citado en la presente descripción, que incluye publicaciones, patentes, solicitudes de patentes y solicitudes de patentes publicadas, se incorpora en su totalidad como referencia en la presente descripción.

Si bien la invención anterior se ha descrito en algunos detalles a modo de ilustración y ejemplo para fines de claridad de comprensión, es evidente para los expertos en la técnica que se practicarán determinados cambios y modificaciones menores. La

descripción y los ejemplos no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención.

Modalidades numeradas

Sin perjuicio de las reivindicaciones adjuntas, la descripción expone las siguientes modalidades numeradas:

1. Un agente farmacéutico que es un agonista de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$ y que se une al dominio extracelular de al menos una de la proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ y proteína $\alpha 3$.
2. El agente farmacéutico de la modalidad 1, en donde el agente farmacéutico se une a al menos uno de:
el dominio de unión a laminina de al menos una de la proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ y proteína $\alpha 3$;
el dominio CALF-1 de al menos una de la proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ y proteína $\alpha 3$; y
el dominio CALF-2 de al menos una de la proteína $\alpha 7$, proteína $\alpha 6$ y proteína $\alpha 3$.
3. El agente farmacéutico de la modalidad 1 que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$ y que se une específicamente a la proteína $\alpha 7$.
4. El agente farmacéutico de la modalidad 1, con la condición negativa de que el agente farmacéutico no aumente la cantidad de proteína $\alpha 7$ en una célula muscular de un sujeto cuando el agente farmacéutico se administra al sujeto.
5. El agente farmacéutico de una cualquiera de las modalidades 1-4, en donde el agente farmacéutico es un anticuerpo.
6. El agente farmacéutico de la modalidad 5, en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
7. El agente farmacéutico de la modalidad 5, en donde el anticuerpo es un anticuerpo multiespecífico.
8. El agente farmacéutico de la modalidad 7, en donde el anticuerpo multiespecífico es un anticuerpo biespecífico.
9. El agente farmacéutico de la modalidad 5, en donde el anticuerpo es humano, humanizado o quimérico.
10. El agente farmacéutico de la modalidad 1, en donde el agente farmacéutico activa al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$.
11. El agente farmacéutico de la modalidad 1, en donde el agente farmacéutico estabiliza la conformación activa de al menos una de la integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$.

12. El agente farmacéutico de la modalidad 3, en donde el agente farmacéutico no se une específicamente a la proteína $\beta 1$.
13. El agente farmacéutico de una cualquiera de las modalidades 1-12, en donde el agente farmacéutico aumenta la adhesión de un mioblasto a la merosina.
14. El agente farmacéutico de la modalidad 13, en donde el mioblasto es un mioblasto humano sano o un mioblasto murino sano.
15. El agente farmacéutico de la modalidad 13, en donde el mioblasto es un mioblasto humano o un mioblasto murino que es al menos uno de los siguientes: deficiente en distrofina, comprende una mutación en la distrofina o comprende distrofina no funcional.
16. El agente farmacéutico de una cualquiera de las modalidades 1-12, en donde el agente farmacéutico aumenta la adhesión de un miotubo a la merosina.
17. El agente farmacéutico de la modalidad 16, en donde el miotubo es un miotubo humano sano o un miotubo murino sano.
18. El agente farmacéutico de la modalidad 16, en donde el miotubo es un miotubo humano o un miotubo murino que es al menos uno de los siguientes: deficiente en distrofina, comprende una mutación en la distrofina o comprende distrofina no funcional.
19. Un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7 \beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo se une específicamente a un epítipo de la proteína $\alpha 7$, en donde el epítipo comprende, consiste esencialmente en, o consiste en:
 - (i) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 o la SEQ ID NO: 1;
 - (ii) 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 o 35-40 aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 o SEQ ID NO: 1; o
 - (iii) 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 o 35-40 aminoácidos de la SEQ ID NO: 24.
20. Un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7 \beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo se une específicamente a un epítipo de la proteína $\alpha 7$, en donde el epítipo comprende SWWP (SEQ ID NO: 25).
21. Un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7 \beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo

se une específicamente a un epítopo que comprende los residuos S977, W978, W979 y P980 de la SEQ ID NO: 24.

22. El anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de la modalidad 20 o 21, en donde el epítopo comprende, consiste esencialmente en, o consiste en 5-10 o 10-15 aminoácidos de la SEQ ID NO: 24.

23. Un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo se une específicamente a un epítopo que comprende los residuos R958, M976, S977, W978, W979 y P980 de la SEQ ID NO: 24.

24. El anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de la modalidad 23, en donde el epítopo comprende, consiste esencialmente en, o consiste en 6-10 o 10-15 aminoácidos de la SEQ ID NO: 24.

25. El anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las modalidades 20-24, en donde el epítopo es continuo.

26. El anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las modalidades 20-24, en donde el epítopo es discontinuo.

27. El anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las modalidades 20-26, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3, y una región variable de la cadena ligera (VL) que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3,

(i) en donde la HCDR3 comprende la SEQ ID NO: 15; y/o en donde la LCDR3 comprende la SEQ ID NO: 7;

(ii) en donde la HCDR3 comprende la SEQ ID NO: 66; y/o en donde la LCDR3 comprende la SEQ ID NO: 7; o

(iii) en donde la HCDR3 comprende la SEQ ID NO: 68; y/o en donde la LCDR3 comprende la SEQ ID NO: 7.

28. El anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de la modalidad 27, en donde la HCDR2 comprende la SEQ ID NO: 3; y/o en donde la LCDR2 comprende la SEQ ID NO: 6.

29. El anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de la modalidad 27 o 28,

(i) en donde la HCDR1 comprende la SEQ ID NO: 14; y/o en donde la LCDR1 comprende la SEQ ID NO: 5;

- (ii) en donde la HCDR1 comprende la SEQ ID NO: 65; y/o en donde la LCDR1 comprende la SEQ ID NO: 5;
- (iii) en donde la HCDR1 comprende la SEQ ID NO: 14; y/o en donde la LCDR1 comprende la SEQ ID NO: 69; o
- (iv) en donde la HCDR1 comprende la SEQ ID NO: 14; y/o en donde la LCDR1 comprende la SEQ ID NO: 71.

30. Un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL),

en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 4, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3;

en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3;

en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; o

en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3.

31. Un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena ligera (VL) y una región variable de la cadena pesada (VH),

en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3;

en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3; o

en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3.

32. Un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7 \beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL), en donde:

(i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 4, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3;

(ii) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 15, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3;

(iii) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 65, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 66, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3;

(iv) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 69, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3; o

(v) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEQ ID NO: 14, HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y HCDR3 de la SEQ ID NO: 68, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de la SEQ ID NO: 71, LCDR2 de la SEQ ID NO: 6 y LCDR3 de la SEQ ID NO: 7, o una variante de estas con 5 o menos sustituciones conservadoras de aminoácidos en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3.

33. El anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de la modalidad 30, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende

(i) la SEQ ID NO: 8, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8;

(ii) la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; o

(iii) la SEQ ID NO: 67, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 67.

34. El anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de la modalidad 31, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende

(i) la SEQ ID NO: 9, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9;

(ii) la SEQ ID NO: 17, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17;

(iii) la SEQ ID NO: 70, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70; o

(iv) la SEQ ID NO: 72, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72.

35. El anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de la modalidad 32, en donde

- (i) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 8, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 9, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9;
- (ii) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 17, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17;
- (iii) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 67, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 67; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 17, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17;
- (iv) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 70, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70; o
- (v) la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 16, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 72, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72.

36. Un anticuerpo monoclonal que es un agonista de la integrina $\alpha 7 \beta 1$, o un fragmento de anticuerpo de este, en donde el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera,

- (i) en donde la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 18, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 19;
 - (ii) en donde la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 45, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 53;
 - (iii) en donde la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 18, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 62; o
 - (iv) en donde la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 18, y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 63.
37. El anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las modalidades 30-36, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo se une específicamente a la proteína $\alpha 7$.
38. El anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las modalidades 30-37, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo se une específicamente a un epítipo de proteína $\alpha 7$, el epítipo de proteína $\alpha 7$ que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia de aminoácidos de
- (i) SEQ ID NO: 10;
 - (ii) 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 o 35-40 aminoácidos de la SEQ ID NO: 10; o
 - (iii) 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35 o 35-40 aminoácidos de la SEQ ID NO: 24.
39. El agente farmacéutico de una cualquiera de las modalidades 1-18 o el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las modalidades 19-38, en donde la integrina $\alpha 7\beta 1$ es la integrina $\alpha 7\beta 1$ humana.
40. El fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las modalidades 19-39, en donde el fragmento de anticuerpo es un Fab, un $F(ab')_2$, un Fab', un scFv, un anticuerpo de dominio único, un diacuerpo o un anticuerpo monocatenario de camélido.
41. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las modalidades 30-40.

42. Un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico de la modalidad 41.
43. El vector de expresión de la modalidad 42, en donde la molécula de ácido nucleico se une operativamente a secuencias reguladoras adecuadas para la expresión del segmento de ácido nucleico en una célula hospedera.
44. Una célula hospedera recombinante que comprende el vector de expresión de la modalidad 42 o 43.
45. Un método para producir un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$, el método comprende: cultivar una célula hospedera recombinante que comprende el vector de expresión de la modalidad 42 o 43 en condiciones efectivas para expresar la molécula de ácido nucleico para producir el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo que es un agonista de la integrina $\alpha 7\beta 1$.
46. Una composición farmacéutica que comprende: el agente farmacéutico de una cualquiera de las modalidades 1-18 o el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las modalidades 19-40, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptables.
47. La composición farmacéutica de la modalidad 46, que comprende además un agente farmacéutico adicional que es un agonista de al menos una de: integrina $\alpha 7\beta 1$, integrina $\alpha 6\beta 1$ e integrina $\alpha 3\beta 1$.
48. Un método para tratar un trastorno o una enfermedad en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico de una cualquiera de las modalidades 1-19 o el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las modalidades 19-40, para tratar de esta manera el trastorno o la enfermedad en el sujeto;
- en donde el trastorno o la enfermedad se caracteriza por uno o más de:
- un mal funcionamiento de la integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto;
- una deficiencia de distrofina en el sujeto;
- una mutación en la distrofina en el sujeto;
- distrofina no funcional en el sujeto; o
- una disfunción muscular distinta del mal funcionamiento de $\alpha 7\beta 1$, o deficiencia, mutación o falta de funcionamiento de la distrofina.
49. El método de la modalidad 48, en donde la disfunción muscular es causada por o se asocia con uno o más de: cáncer, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad renal crónica, infección por VIH/SIDA,

anorexia nerviosa, bulimia, desnutrición, exposición, náuseas, diabetes tipo I, diabetes tipo II, síndrome metabólico, caquexia, anemia, insuficiencia cardíaca, presión arterial alta, rabdomiólisis, septicemia, sarcopenia, inactividad física, daño debido a actividad física excesiva, hipotermia, hipertermia, lesión, denervación, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple, atrofia muscular espinal, miopatía asociada al alcohol, miopatía asociada a quemaduras, accidente cerebrovascular, terapia con corticosteroides o la interrupción de la terapia con corticosteroides, dermatomiositis, síndrome de Guillain-Barré, neuropatía, artrosis, infección, polio, polimiositis, inflamación, artritis reumatoide, hipocolesterolemia, lesiones eléctricas, termoplejía, inmovilización prolongada, falta de flujo sanguíneo a una extremidad, o contacto con veneno.

50. El método de la modalidad 48, en donde la enfermedad es una enfermedad de atrofia muscular progresiva.

51. El método de la modalidad 50, en donde la enfermedad de atrofia muscular progresiva es una distrofia muscular.

52. El método de la modalidad 51, en donde la distrofia muscular es distrofia muscular de Duchenne (DMD), distrofia muscular de Becker, distrofia muscular congénita de tipo 1A con deficiencia de merosina o distrofia muscular de cinturas.

53. El método de la modalidad 49, que comprende además identificar un sujeto que tiene una disfunción muscular.

54. El método de la modalidad 50, que comprende además identificar un sujeto que tiene una enfermedad de atrofia muscular progresiva.

55. El método de una cualquiera de las modalidades 49-54, en donde la administración invierte, estabiliza o ralentiza la atrofia muscular progresiva o la disfunción muscular en el sujeto.

56. El método de una cualquiera de las modalidades 49-54, en donde la administración mejora la función muscular en el sujeto.

57. El método de una cualquiera de las modalidades 49-54, en donde la administración no empeora la función muscular en el sujeto.

58. El método de una cualquiera de las modalidades 49-54, que comprende además medir la función muscular en el sujeto después de la etapa de administración, en donde se reduce la velocidad de empeoramiento de la función muscular.

59. El método de una cualquiera de las modalidades 50-52 y 54, en donde administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico es

efectiva para regular positivamente la actividad y/o cantidad de integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto efectiva para tratar el mal funcionamiento de la integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto.

60. El método de una cualquiera de las modalidades 50-52 y 54, en donde administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico es efectivo para regular positivamente la actividad y/o cantidad de integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto, la actividad regulada positivamente y/o la cantidad de integrina $\alpha 7\beta 1$ en el sujeto que es efectiva para mitigar al menos en parte el efecto de al menos uno de los siguientes: la deficiencia de distrofina en el sujeto; la mutación en la distrofina en el sujeto; o la distrofina no funcional en el sujeto.

61. El método de una cualquiera de las modalidades 49-54, en donde administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico es efectivo para mitigar la lesión muscular en el sujeto.

62. El método de una cualquiera de las modalidades 49-54, en donde administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico es efectivo para mitigar la lesión muscular excéntrica en el sujeto.

63. El método de una cualquiera de las modalidades 49-54, en donde administrar al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico es efectivo para mejorar la función muscular del diafragma en el sujeto.

64. El método de una cualquiera de las modalidades 49-54, que comprende además administrar al sujeto una o más terapias adicionales, la una o más terapias adicionales dirigidas a la distrofia muscular o a la atrofia muscular progresiva.

65. El método de una cualquiera de las modalidades 49-54, en donde la una o más terapias adicionales comprenden uno o más de: un anticonvulsivo; un inmunosupresor; un antibiótico; quinina; tratamiento para la atención integral de la insuficiencia cardíaca congestiva; una terapia de reemplazo génico; una terapia de omisión de exones; una terapia de supresión de mutaciones sin sentido; tratamiento mediante el uso de una nucleasa modificada genéticamente; tratamiento celular mediante el uso de células precursoras musculares o células madre; regulación positiva de la utrofina; una terapia antiinflamatoria; una terapia antifibrótica; un terapia con corticosteroides; un bloqueador de la miostatina; factor de crecimiento de insulina; un inhibidor de la fosfodiesterasa 5; un inhibidor de la ACE; inducción de la angiogénesis mediante el suministro del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF); regulación negativa del receptor señuelo del VEGF tipo 1 (VEGFR-1 o Flt-1);

fisioterapia; terapia ocupacional; cirugía; intervención ortopédica; logopedia; fisioterapia respiratoria; un marcapasos; y un dispositivo de asistencia respiratoria.

66. Un método para activar la integrina $\alpha 7\beta 1$ en una célula muscular de un sujeto, el método comprende: administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico de una cualquiera de las modalidades 1-18 o el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las modalidades 19-40, para activar de esta manera la integrina $\alpha 7\beta 1$ en una célula muscular del sujeto.

67. Un método para aumentar la unión de la integrina $\alpha 7\beta 1$ a su ligando en una célula muscular de un sujeto, el método comprende:
administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva del agente farmacéutico de una cualquiera de las modalidades 1-18 o el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las modalidades 19-40, para aumentar de esta manera la unión de la integrina $\alpha 7\beta 1$ a su ligando en una célula muscular del sujeto.

68. Uso del agente farmacéutico de una cualquiera de las modalidades 1-18 o el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo de una cualquiera de las modalidades 19-40 en la fabricación de un medicamento para tratar un trastorno o una enfermedad caracterizada por un mal funcionamiento de la integrina $\alpha 7\beta 1$ en un sujeto.