

REIVINDICACIONES

1. Proteína de unión que comprende al menos un dominio de unión a
5 antígeno que se une a la toxina similar a la enteritis necrótica B (NetB), dicho
dominio de unión a antígeno comprendiendo:

una región variable de cadena pesada que comprende tres regiones
determinantes de complementariedad (CDR);

10 en donde dicha proteína de unión se une a NetB con una KD de 250
pM o menos a un pH de 7.4.

2. La proteína de unión de conformidad con la reivindicación 1, en
donde dicha proteína de unión es capaz de reducir la actividad tóxica de NetB a un
pH de 6.0.

15

3. La proteína de unión de conformidad con la reivindicación 1 o la
reivindicación 2, en donde dicha proteína de unión es capaz de reducir la actividad
tóxica de una concentración EC_{80} de NetB o 20 nM de NetB contra células de
glóbulos rojos de pollo con un valor IC_{50} de menos de 150 nM a un pH de 6.0.

20

4. La proteína de unión de conformidad con cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 3, en donde dicha proteína de unión muestra resistencia a la
digestión con pepsina a una concentración de pepsina de 30 U/ml y una temperatura
de 37 °C.

25

5. La proteína de unión de conformidad con cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 4, en la que dicha proteína de unión muestra resistencia a la
digestión con quimotripsina a una concentración de quimotripsina de 1 µg/ml y una
temperatura de 37 °C.

30

6. La proteína de unión de conformidad con cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 5, en donde dicha proteína de unión muestra resistencia a la

digestión con pancreatina a una concentración de pancreatina de 0,5 mg/ml y una temperatura de 37 °C.

5 7. La proteína de unión de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde dicha región variable de cadena pesada comprende:

(i) una CDR1 de variable pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de GSIRSISFMN (SEQ ID NO:2), o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma, en donde dicha secuencia sustancialmente homóloga es una
10 secuencia que contiene 1, 2, 3 o 4 sustituciones de aminoácidos en comparación con la secuencia CDR dada,

(ii) una CDR2 de variable pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de INQIGNT (SEQ ID NO:3), o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma, en donde dicha secuencia sustancialmente homóloga es una
15 secuencia que contiene 1, 2 o 3 sustituciones de aminoácidos en comparación con la secuencia CDR dada, y

(iii) una CDR3 de variable pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de IVRGTVSPFQF (SEQ ID NO:4), o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma, en donde dicha secuencia sustancialmente
20 homóloga es una secuencia que contiene 1, 2, 3 o 4 sustituciones de aminoácidos en comparación con la secuencia CDR dada.

25 8. La proteína de unión de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde dicha región variable de cadena pesada comprende:

(i) una CDR1 de variable pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de GLTFSGYSLG (SEQ ID NO: 10), o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma, en donde dicha secuencia sustancialmente homóloga es una
30 secuencia que contiene 1, 2, 3 o 4 sustituciones de aminoácidos en comparación con la secuencia CDR dada,

(ii) una CDR2 de variable pesada (VH) que comprende la secuencia

de aminoácidos de ISSSGMIT (SEQ ID NO: 11), o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma, en donde dicha secuencia sustancialmente homóloga es una secuencia que contiene 1, 2 o 3 sustituciones de aminoácidos en comparación con la secuencia CDR dada, y

- 5 (iii) una CDR3 de variable pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de RFPRPRSWLSTDSYNY (SEQ ID NO: 12), o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma, en donde dicha secuencia sustancialmente homóloga es una secuencia que contiene 1, 2, 3 o 4 sustituciones de aminoácidos en comparación con la secuencia CDR dada.

10

9. La proteína de unión de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicha proteína de unión es o comprende un anticuerpo.

10. La proteína de unión de conformidad con la reivindicación 9, en
15 donde dicho anticuerpo es un anticuerpo de dominio único.

11. Un anticuerpo que se une al mismo epítipo de NetB que un anticuerpo con una región variable de cadena pesada como se define en la reivindicación 7 o la reivindicación 8.

20

12. La proteína de unión o anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde dicha proteína de unión o anticuerpo se proporciona como un dímero o un multímero más grande.

- 25 13. Una o más moléculas de ácido nucleico que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican una proteína de unión o un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.

14. Uno o más vectores de expresión que comprenden la una o más
30 de las moléculas de ácido nucleico de la reivindicación 13.

15. Una o más células huésped que comprenden dichos vectores de expresión de la reivindicación 14, o dichas moléculas de ácido nucleico de la reivindicación 13, o que expresan el anticuerpo o la proteína de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.

5

16. Células huésped de conformidad con la reivindicación 15, en donde dichas células son células bacterianas, preferiblemente células bacterianas probióticas, o células de levadura.

10

17. Las células huésped de conformidad con la reivindicación 16, en donde dichas células bacterianas son *Bacillus*, preferiblemente *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus*, preferiblemente *Lactobacillus reuteri*, *Lactococcus*, *Salmonella*, *Escherichia coli* o *Listeria*, o en donde dichas células de levadura son *Pichia* o *Saccharomyces*.

15

18. Método para producir una proteína de unión o un anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, dicho método comprendiendo las etapas de (i) cultivar una célula huésped de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 15 a 17, en condiciones adecuadas para la expresión de la proteína de unión o el anticuerpo codificado; y opcionalmente (ii) aislar u obtener la proteína de unión o el anticuerpo de la célula huésped o del medio de crecimiento/sobrenadante.

20

19. Una composición, preferiblemente una composición farmacéuticamente aceptable, que comprende una proteína de unión o un anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, una o más moléculas de ácido nucleico de la reivindicación 13, uno o más vectores de expresión de la reivindicación 14, o una o más células huésped de las reivindicaciones 15 a 17.

25

30

20. La composición de conformidad con la reivindicación 19, que

comprende además otros agentes activos.

21. La composición de conformidad con la reivindicación 20, en donde otro agente activo es un agente que inhibe la toxina alfa de *C. perfringens* (CPA),
5 preferiblemente un anticuerpo anti-CPA.

22. Un producto alimenticio o aditivo alimentario, preferiblemente un producto o aditivo para alimentos, que comprende una proteína de unión o un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, o una o más células
10 huésped de cualquiera de las reivindicaciones 15 a 17, o una composición de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21.

23. El producto alimenticio o aditivo alimentario de conformidad con la reivindicación 22, en donde dicho producto o aditivo es una premezcla de alimento
15 o un polvo de aderezo.

24. La proteína de unión o anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, la una o más moléculas de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 13, el uno o más vectores de expresión de
20 conformidad con la reivindicación 14, la una o más células huésped de conformidad con las reivindicaciones 15 a 17, o la composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21, para su uso en terapia en un sujeto, preferiblemente para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por *C. perfringens* en un
sujeto.

25

25. La proteína de unión o anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, la una o más moléculas de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 13, el uno o más vectores de expresión de
conformidad con la reivindicación 14, la una o más células huésped de conformidad
30 con las reivindicaciones 15 a 17, o la composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21, para su uso en el tratamiento o prevención de la

enteritis necrótica (NE) en un sujeto.

26. Uso de la proteína de unión o anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, de una o más moléculas de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 13, de uno o más vectores de expresión de conformidad con la reivindicación 14, de una o más células huésped de conformidad con las reivindicaciones 15 a 17, o de la composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21, en la fabricación de un medicamento o composición para su uso en el tratamiento o prevención de la infección por *C. perfringens* en un sujeto.

27. Uso de la proteína de unión o anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, de una o más moléculas de ácido nucleico de conformidad con la reivindicación 13, de uno o más vectores de expresión de conformidad con la reivindicación 14, de una o más células huésped de conformidad con las reivindicaciones 15 a 17, o de la composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21, en la fabricación de un medicamento o composición para su uso en el tratamiento o prevención de la enteritis necrótica (NE) en un sujeto.

28. Un método de tratamiento o prevención de la infección por *C. perfringens* en un sujeto, en donde dicho método comprende la etapa de administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de la proteína de unión o anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, la una o más moléculas de ácido nucleico de la reivindicación 13, el uno o más vectores de expresión de la reivindicación 14, la una o más células huésped de las reivindicaciones 15 a 17, o la composición de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21.

29. Un método de tratamiento o prevención de la enteritis necrótica (NE) en un sujeto, en donde dicho método comprende la etapa de administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de la proteína de unión o anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, la una o más moléculas

de ácido nucleico de la reivindicación 13, el uno o más vectores de expresión de la reivindicación 14, la una o más células huésped de las reivindicaciones 15 a 17, o la composición de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21.

- 5 30. La proteína de unión proteína, anticuerpo, moléculas de ácido nucleico, vectores de expresión, células huésped o composiciones para uso de la reivindicación 24 o la reivindicación 25, el uso de la reivindicación 26 o la reivindicación 27, o el método de la reivindicación 28 o la reivindicación 29, en donde dicho sujeto es una especie aviar, preferiblemente un ave de corral, más
10 preferiblemente un pollo.