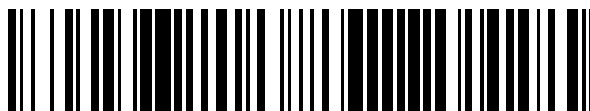


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 878 037**

51 Int. Cl.:

A61P 1/00	(2006.01)
A61P 11/00	(2006.01)
A61P 11/06	(2006.01)
A61P 17/00	(2006.01)
C07K 16/24	(2006.01)
A61P 37/08	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.10.2017 PCT/US2017/058020**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.05.2018 WO18081075**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.10.2017 E 17794593 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.05.2021 EP 3532499**

54 Título: **Anticuerpos anti-IL-33 y usos de los mismos**

30 Prioridad:

28.10.2016 US 201662414258 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

18.11.2021

73 Titular/es:

**ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

**BENSCHOP, ROBERT JAN;
DAVIES, JULIAN;
OKRAGLY, ANGELA JEANNINE;
PATEL, CHETANKUMAR NATVARLAL y
TRUHLAR, STEPHANIE MARIE**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 878 037 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos anti-IL-33 y usos de los mismos

5 La presente invención pertenece al campo de la medicina. Más particularmente, la presente invención se refiere a anticuerpos dirigidos contra la interleucina 33 (IL-33) y a composiciones farmacéuticas de los mismos. Se espera que los anticuerpos de la presente invención sean útiles en el tratamiento de la dermatitis atópica.

10 La dermatitis atópica (también conocida como eccema atópico) es una enfermedad alérgica inflamatoria crónica de la piel que se caracteriza por lesiones recurrentes rojas y pruriginosas. En los pacientes con dermatitis atópica se observan dos anomalías fisiopatológicas importantes; inflamación cutánea debida a respuestas inmunitarias inapropiadas en la piel y una estructura y función epidérmicas alteradas. El infiltrado inflamatorio está compuesto por una mezcla de células, en particular células inmunitarias que expresan IL-4, IL-5 e IL-13. Estas citocinas a menudo se encuentran elevadas en otras enfermedades alérgicas tales como el asma y la rinitis alérgica.

15 La dermatitis atópica se ha descrito como la principal carga sanitaria no mortal atribuible a las enfermedades de la piel. Aunque con mayor frecuencia comienza en la infancia y afecta a dos de cada diez niños, también es muy prevalente en adultos. La mayoría de los adultos que padecen dermatitis atópica crónica han tenido una enfermedad casi de por vida. El prurito, la falta de sueño y la vergüenza social debida a lesiones visibles tienen efectos considerables sobre el bienestar psicosocial de los pacientes y sus familiares. En los niños, el efecto de la dermatitis atópica sobre la calidad de vida relacionada con la salud es similar al de otros trastornos importantes de la infancia, tales como asma y la diabetes. La mayoría de las personas que tiene dermatitis atópica tienen antecedentes personales o familiares de alergias.

20 En la actualidad, la dermatitis atópica no se puede curar y el objetivo del tratamiento de la enfermedad es controlar o mejorar los síntomas y lograr el control de la enfermedad a largo plazo con un enfoque de varias etapas. Los principios fundamentales son la reparación continua de la barrera epidérmica con emolientes, la evitación de factores desencadenantes individuales y la terapia antiinflamatoria con corticoesteroides tópicos o inhibidores de la calcineurina. En casos gravemente afectados, están indicados la fototerapia o los inmunodepresores sistémicos. De esta manera, existe la necesidad de terapias eficaces adicionales para pacientes con dermatitis atópica.

25 La IL-33 es un miembro de la superfamilia de citocinas IL-1 y se expresa principalmente en queratinocitos, células epiteliales y células endoteliales. La IL-33 activa varios tipos de células de la inmunidad innata y adquirida, provocando la producción de otros mediadores proinflamatorios, y se caracteriza con mayor frecuencia como una citoquina epitelial que estimula respuestas inmunitarias de tipo 2 o de T auxiliares 2 (Th2). Existen varios anticuerpos que se unen y neutralizan a la IL-33 conocidos en la técnica. Por ejemplo, la Publicación de Estados Unidos N.º 20160168242A1 y las Publicaciones Internacionales N.º WO2015/106080A2 y WO2016/077381 divulgan determinados anticuerpos que se unen a la IL-33 humana. Sin embargo, existe una necesidad de anticuerpos alternativos que se unan a la IL-33 humana con alta afinidad y sean terapéuticamente eficaces en el tratamiento de enfermedades alérgicas tales como la dermatitis atópica. Una afinidad mejorada y una CI_{50} superior pueden permitir beneficios de dosificación.

30 La presente invención aborda la necesidad de una terapia de anticuerpos alternativa para pacientes que tienen enfermedades alérgicas tales como dermatitis atópica, alergia alimentaria, rinitis alérgica y asma. En algunas realizaciones, la enfermedad alérgica es dermatitis atópica. La presente invención también aborda la necesidad de una terapia de anticuerpos alternativa para pacientes que tienen enfermedades inflamatorias persistentes, incluida la esofagitis eosinofílica, la esclerodermia/esclerosis generalizada, la colitis ulcerosa y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. La presente invención también aborda la necesidad de una terapia de anticuerpos alternativa para pacientes que tiene enfermedad de Crohn.

35 De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un anticuerpo que se une a la IL-33 humana, que comprende dos LCDR1, cada una de la SEQ ID NO: 16, dos LCDR2, cada una de la SEQ ID NO: 17, dos LCDR3, cada una de la SEQ ID NO: 18, dos HCDR1, cada una de la SEQ ID NO: 13, dos HCDR2, cada una de la SEQ ID NO: 14, y dos HCDR3, cada una de la SEQ ID NO: 15, en donde cada LCVR es la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 8 o la SEQ ID NO: 12, y cada HCVR es la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 11.

40 De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, se proporciona un anticuerpo de acuerdo con la presente invención en donde cada LCVR es la SEQ ID NO: 4 y cada HCVR es la SEQ ID NO: 3.

45 De acuerdo con otra realización preferida de la presente invención, se proporciona un anticuerpo de acuerdo con la presente invención en donde cada LCVR es la SEQ ID NO: 8 y cada HCVR es la SEQ ID NO: 7.

50 De acuerdo con aún otra realización preferida de la presente invención, se proporciona un anticuerpo de acuerdo con la presente invención en donde, cada LCVR es la SEQ ID NO: 12 y cada HCVR es la SEQ ID NO: 11.

55 Preferentemente, cada LC es la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 6 o la SEQ ID NO: 10, y cada HC es la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 5 o la SEQ ID NO: 9.

Preferentemente, cada LC es la SEQ ID NO: 2 y cada HC es la SEQ ID NO: 1.

Preferentemente, cada LC es la SEQ ID NO: 6 y cada HC es la SEQ ID NO: 5.

5

Preferentemente, cada LC es la SEQ ID NO: 10 y cada HC es la SEQ ID NO: 9.

De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de la presente invención y uno o más transportadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

10

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona el anticuerpo de la presente invención para su uso en terapia.

15

Preferentemente, el anticuerpo de la presente invención es para su uso en el tratamiento de una o más enfermedades alérgicas.

Más preferentemente, el anticuerpo de la presente invención es para su uso una enfermedad alérgica en donde la enfermedad alérgica es dermatitis atópica, asma, rinitis alérgica o alergia alimentaria. Incluso más preferentemente, el anticuerpo de la presente invención es para dermatitis atópica.

20

En una realización preferida, el anticuerpo de la presente invención es para su uso en el tratamiento de la esofagitis eosinofílica, la esclerodermia/esclerosis generalizada, la colitis ulcerosa o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

25

De acuerdo con una realización preferida adicional, el anticuerpo de la presente invención es para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Crohn.

La presente invención proporciona también una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo de la presente invención, y uno o más transportadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden utilizarse en el tratamiento de una enfermedad alérgica, por lo que dicho tratamiento comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de una composición farmacéutica de la presente invención. En algunas realizaciones particulares, la enfermedad alérgica es dermatitis atópica, asma, rinitis alérgica o alergia alimentaria. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden utilizarse en el tratamiento de la esofagitis eosinofílica, la esclerodermia/esclerosis generalizada, la colitis ulcerosa o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden utilizarse en el tratamiento de la enfermedad de Crohn.

30

35

La presente invención también proporciona un método de tratamiento de una enfermedad alérgica, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo de la presente invención. En algunas de tales realizaciones, la enfermedad alérgica es dermatitis atópica. En otras de tales realizaciones, la enfermedad alérgica es asma. En otras de tales realizaciones, la enfermedad alérgica es alergia alimentaria. En otras de tales realizaciones, la enfermedad alérgica es rinitis alérgica. La presente invención también proporciona un método de tratamiento de la dermatitis atópica, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo de la presente invención. En algunas realizaciones, la presente invención también proporciona un método de tratamiento de al menos una de esofagitis eosinofílica, esclerodermia/esclerosis generalizada, colitis ulcerosa y enfermedad pulmonar obstructiva crónica, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo de la presente invención. En algunas realizaciones, la presente invención también proporciona un método de tratamiento de la enfermedad de Crohn.

40

45

50

La presente invención también proporciona un anticuerpo de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo para su uso en terapia. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo para su uso en el tratamiento de enfermedades alérgicas, en donde la enfermedad alérgica es dermatitis atópica, asma, rinitis alérgica o alergia alimentaria. En una realización particular, la presente invención proporciona un anticuerpo de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo para su uso en el tratamiento de la dermatitis atópica. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo para su uso en el tratamiento de la esofagitis eosinofílica, la esclerodermia/esclerosis generalizada, la colitis ulcerosa o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Crohn.

55

60

En una realización, la presente invención también proporciona el uso de un anticuerpo de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad alérgica. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona el uso de un anticuerpo de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una

65

enfermedad alérgica, en donde la enfermedad alérgica es dermatitis atópica, asma, rinitis alérgica o alergia alimentaria. En una realización particular, la presente invención proporciona el uso de un anticuerpo de la presente invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la dermatitis atópica. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona el uso de un anticuerpo de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo en

5 la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la esofagitis eosinofílica, la esclerodermia/esclerosis generalizada, la colitis ulcerosa o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona el uso de un anticuerpo de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Crohn.

10 La presente invención también se refiere a las moléculas de ácido nucleico que codifican los anticuerpos de la presente invención. En una realización, la presente invención proporciona una molécula de ADN que comprende una secuencia polinucleotídica que codifica una HC, en donde la secuencia de aminoácidos de la HC es la SEQ ID NO: 9. De acuerdo con algunas de tales realizaciones, la molécula de ADN tiene una secuencia polinucleotídica proporcionada por la SEQ ID NO: 20.

15 En una realización, la presente invención proporciona una molécula de ADN que comprende una secuencia polinucleotídica que codifica una LC, en donde la secuencia de aminoácidos de la LC es la SEQ ID NO: 10. De acuerdo con algunas de tales realizaciones, la molécula de ADN tiene una secuencia polinucleotídica proporcionada por la SEQ ID NO: 21.

20 En una realización adicional, la presente invención proporciona una molécula de ADN que comprende una secuencia polinucleotídica que codifica una HC que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y que comprende una secuencia polinucleotídica que codifica una LC que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10. En una realización particular, la secuencia polinucleotídica que codifica la HC que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 está proporcionada por la SEQ ID NO: 20, y la secuencia polinucleotídica que codifica la LC que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 está proporcionada por la SEQ ID NO: 21.

30 La presente invención también proporciona una célula de mamífero transformada con una molécula (o moléculas) de ADN, célula que es capaz de expresar un compuesto que comprende una HC y una LC de la presente invención, en donde la HC está proporcionada por la SEQ ID NO: 9, y la LC está proporcionada por la SEQ ID NO: 10. Además, la presente invención proporciona un procedimiento para la producción de un compuesto que comprende la HC y la LC, que comprende cultivar la célula de mamífero en condiciones tales que se exprese el anticuerpo de la presente invención. La presente invención también proporciona un anticuerpo producido mediante dicho proceso.

35 En otra realización, la presente invención proporciona un anticuerpo que contacta con la IL-33 humana en un nuevo epítipo, en donde el epítipo tiene los siguientes restos de la SEQ ID NO: 19: Ser en la posición 23; Pro en la posición 24; Ile en la posición 25; Thr en la posición 26; Glu en la posición 27; Tyr en la posición 28; Leu en la posición 29; Tyr en la posición 69; Glu en la posición 71; Val en la posición 83; Asp en la posición 84; Lys en la posición 86; Leu en la posición 88; Leu en la posición 126; Asn en la posición 128; Met en la posición 129; Asn en la posición 132; Cys en la posición 133; Val en la posición 134; Glu en la posición 175; y Thr en la posición 176. En tal realización, el epítipo se determina mediante cristalografía de rayos X, en que cualquier resto de IL-33 dentro de los 4,5 Å de otro resto del Fab unido se considera un sitio de contacto. El término "epítipo", como se usa en el presente documento, se refiere por tanto a sitios de un antígeno que están en contacto con la región variable de un anticuerpo.

45 Como se usa en el presente documento, un "anticuerpo" es una molécula de inmunoglobulina que comprende 2 HC y 2 LC interconectadas mediante enlaces disulfuro. La porción amino terminal de cada LC y HC incluye una región variable de aproximadamente 100-120 aminoácidos principalmente responsables del reconocimiento de antígenos a través de las CDR contenidas en las mismas. Las CDR están intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco conservadas ("FR"). Cada LCVR y HCVR se compone de 3 CDR y 4 FR, dispuestas desde el extremo amino hasta el extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las 3 CDR de la LC se denominan "LCDR1, LCDR2 y LCDR3", y las 3 CDR de la HC se denominan "HCDR1, HCDR2 y HCDR3". Las CDR contienen la mayoría de los restos que forman interacciones específicas con el antígeno. Es decir, las CDR contienen la mayoría de los restos que están en contacto con (dentro de los 4,5 Å) los restos del antígeno. La capacidad funcional de un anticuerpo para unirse a un antígeno particular está, por tanto, influida en gran medida por los restos de aminoácidos dentro de las seis CDR. La asignación de aminoácidos a dominios CDR dentro de las regiones LCVR y HCVR de los anticuerpos de la presente invención se basa en la muy conocida convención de numeración de Kabat (Kabat, *et al.*, Ann. NY Acad. Sci. 190:382-93 (1971); Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta edición, U.S. Department of Health and Human Services, Publication del NIH n.º 91-3242(1991)), la convención de numeración de North (North *et al.*, A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations, Journal of Molecular Biology, 406:228-256 (2011)) y la de Chothia (Chothia C, Lesk AM. Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. J. Mol. Biol. 1987; 196:901-17. Chothia C, Lesk AM, Tramontano A, Levitt M, Smith-Gill SJ, Air G, Sheriff S, Padlan EA, Davies D, Tulip WR, *et al.* Conformations of immunoglobulin hypervariable regions. Nature. 1989; 342:877-83). Las CDR de los anticuerpos de la presente invención se definen de acuerdo con la Tabla 1.

65

Tabla 1. Convenciones de numeración de CDR utilizadas para definir las CDR de los anticuerpos de la presente invención.

CDR	Resto de aminoácido inicial definido por:	Resto de aminoácido final definido por:
HCDR1	Chothia	Kabat/North
HCDR2	Kabat	Kabat
HCDR3	Chothia/Kabat	Chothia/Kabat
LCDR1	Chothia/Kabat/North	Chothia/Kabat/North
LCDR2	Chothia/Kabat	Chothia/Kabat/North
LCDR3	Chothia/Kabat/North	Chothia/Kabat/North

Los anticuerpos de la presente invención pueden prepararse y purificarse utilizando métodos conocidos. Por ejemplo, las secuencias de ADNc que codifican una HC (por ejemplo, la secuencia de aminoácidos proporcionada por la SEQ ID NO: 9) y una LC (por ejemplo, la secuencia de aminoácidos proporcionada por la SEQ ID NO: 10) pueden clonarse y diseñarse técnicamente en un vector de expresión de GS (glutamina sintasa). El vector de expresión de inmunoglobulinas técnicamente diseñado puede, después, transfectarse de forma estable en células CHO. Como apreciará un experto en la materia, la expresión de anticuerpos en mamíferos dará como resultado la glucosilación, normalmente en sitios de N-glucosilación altamente conservados en la región Fc. En los clones estables puede verificarse la expresión de un anticuerpo que se une específicamente a IL-33. Los clones positivos se pueden expandir en un medio de cultivo sin suero para la producción de anticuerpos en biorreactores. El medio en el que se ha secretado un anticuerpo puede purificarse mediante técnicas convencionales. Por ejemplo, el medio se puede aplicar convenientemente a una columna de Sepharose FF Proteína A o G que se haya equilibrado con un tampón compatible, tal como solución salina tamponada con fosfato. La columna se lava para eliminar los componentes de unión inespecífica. El anticuerpo unido se eluye, por ejemplo, mediante un gradiente de pH, y se detectan las fracciones de anticuerpos, tal como por SDS-PAGE, y luego se agrupan. El anticuerpo puede concentrarse y/o esterilizarse por filtración utilizando técnicas comunes. Los agregados solubles y los multímeros pueden eliminarse de forma eficaz mediante técnicas comunes, incluida la exclusión por tamaño, la interacción hidrófoba, el intercambio iónico o la cromatografía de hidroxipatita. El producto puede congelarse inmediatamente, por ejemplo, a -70 °C, o puede liofilizarse.

Se puede incorporar un anticuerpo de la presente invención en una composición farmacéutica que se puede preparar mediante métodos bien conocidos en la técnica y que comprenda un anticuerpo de la presente invención y uno o más transportadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un anticuerpo de la presente invención puede administrarse a un paciente en riesgo de presentar, o que presente, enfermedades o trastornos como se describe en el presente documento, mediante vías parentales (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular o transdérmica). Una "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad necesaria (en las dosificaciones y durante los períodos de tiempo y para los medios de administración) para lograr el resultado terapéutico deseado. Una cantidad eficaz del anticuerpo puede variar de acuerdo con factores tales como la patología, la edad, el sexo y el peso del individuo, y de la capacidad del anticuerpo para suscitar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad eficaz es también una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial del anticuerpo de la presente invención se ve superado por los efectos terapéuticamente beneficiosos.

Los anticuerpos de la presente invención pueden utilizarse en el tratamiento de pacientes. Más particularmente, se espera que los anticuerpos de la presente invención traten enfermedades alérgicas tales como dermatitis atópica, asma, rinitis alérgica y alergia alimentaria. Las enfermedades alérgicas son un conjunto de afecciones crónicas que implican respuestas inmunitarias anómalas frente a sustancias que normalmente son inofensivas para la mayoría de las personas. Además, se espera que los anticuerpos de la presente invención traten la esofagitis eosinofílica, la esclerodermia/esclerosis generalizada, la colitis ulcerosa y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Además, se espera que los anticuerpos de la presente invención traten la enfermedad de Crohn.

Como se usa indistintamente en el presente documento, "tratamiento" y/o "que tratar" y/o "tratar" se pretende que se refieran a todos los procesos en donde puede haber un enlentecimiento, interrupción, detención, control, terminación o inversión de la progresión de los trastornos descritos en el presente documento, pero no indican necesariamente una eliminación total de todos los síntomas del trastorno. El tratamiento incluye la administración de un anticuerpo de la presente invención para el tratamiento de una enfermedad o afección en un ser humano que se beneficiaría de una reducción en la actividad de IL-33, e incluye: (a) la inhibición de la progresión adicional de la enfermedad; y (b) el alivio de la enfermedad, es decir, provocar la regresión de la enfermedad o trastorno o aliviar los síntomas o complicaciones del mismo.

Anticuerpo técnicamente diseñado

Se optimizó un anticuerpo anti-IL-33 humana parental para unirse a IL-33 humana. Para conseguir esto, las CDR de VH y VL aisladas se aleatorizaron mediante mutagénesis y los anticuerpos resultantes se cribaron en cuanto a la unión a IL-33 humana utilizando un ELISA. Las mutaciones potenciadoras de la afinidad se combinaron luego para producir el Anticuerpo 23, que luego se optimizó utilizando un enfoque de biblioteca de armazones. Para la biblioteca de armazones, se sintetizaron doce genes (1-24, 1-46, 1-69, 2-5, 3-15, 3-23, 3-53, 3-72, 4-04, 4-39, 5-51 y 6-01) de la línea germinal de la región marco conservada de VH humana y ocho genes (A-19, A-26, A-27, B-2, B-3, L-2, L-12 y O-2) de la región marco conservada de VL humana que contienen las CDR del Anticuerpo 23 y se clonaron en vectores de expresión de IgG4 humana de cadena pesada y ligera. Después de la transfección transitoria de 293 HEK de las 96 combinaciones de cadenas pesadas y ligeras, los sobrenadantes se sometieron a ensayo mediante ELISA en cuanto a la unión a IL-33 humana directamente recubierta en una placa y a IL-33 biotinilada en solución después de la captura de IgG humana de los sobrenadantes con un anticuerpo anti-kappa humana. Un anticuerpo humano con CDR procedentes del anticuerpo Anticuerpo 23, utilizando el armazón humano de la cadena pesada 3-53 y el armazón de cadena ligera humana A27, fue elegido para un mayor desarrollo (Anticuerpo 75). La expresión del Anticuerpo 75 en CHO transitorias dio como resultado títulos de expresión más altos en comparación con el Anticuerpo 23. Adicionalmente, la purificación del Anticuerpo 75 dio como resultado rendimientos de purificación más altas que el Anticuerpo 23. Además, con el Anticuerpo 75 se observó una unión inespecífica reducida a la heparina en comparación con el Anticuerpo 23. En conjunto, el Anticuerpo 75 tenía propiedades preferidas en comparación con el Anticuerpo 23. El Anticuerpo 75 se unió a IL-33 humana con una afinidad de 14,5 pM y se unió a IL-33 de cinomolgo con una afinidad de 12.400 pM, lo que representa una diferencia de ~850 veces en la reactividad cruzada entre especies.

A continuación, se optimizó el Anticuerpo 75 en cuanto a la unión a IL-33 de cinomolgo. Para conseguir esto, las CDR de las VH y VL aisladas del Anticuerpo 75 se aleatorizaron mediante mutagénesis y los anticuerpos resultantes se cribaron en cuanto a la unión a IL-33 humana e IL-33 de cinomolgo mediante ELISA. A continuación, se combinaron mutaciones potenciadoras de la afinidad por cinomolgo que no afectaban significativamente la afinidad por la IL-33 humana para producir el Anticuerpo 54. El Anticuerpo 54 se unió a IL-33 humana con una afinidad de 46 pM y se unió a IL-33 de cinomolgo con una afinidad de 217 pM, lo que representa una diferencia de 5 veces en la reactividad cruzada entre especies. A continuación, el Anticuerpo 54 se diseñó técnicamente adicionalmente para reducir una eventual inmunogenicidad, lo que dio como resultado el Anticuerpo 43. Se proporcionan a continuación los números de identificación de la secuencia de aminoácidos para los Anticuerpos 43, 54 y 75.

	HC	LC	HCVR	LCVR
Ab 75	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 4
Ab 54	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8
Ab 43	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 12

Ejemplos

35 Ejemplo 1: Expresión y purificación de los anticuerpos ejemplificados

Los anticuerpos de la invención se pueden biosintetizar, purificar y formular para su administración mediante métodos muy conocidos. Se transfecta una célula hospedadora adecuada, tal como HEK 293 o CHO, de forma transitoria o estable con un sistema de expresión para la secreción de anticuerpos, utilizando una relación de vectores de HC:LC predeterminada si se utilizan dos vectores, o un único sistema de vectores que codifica tanto la cadena pesada como la cadena ligera. Los vectores adecuados para la expresión y secreción de anticuerpos a partir de estas células hospedadoras de uso común son muy conocidos.

Después de la expresión y secreción del anticuerpo, el medio se clarifica para eliminar las células y el medio clarificado se purifica utilizando cualquiera de las muchas técnicas comúnmente utilizadas. Por ejemplo, el medio se puede aplicar a una columna de Proteína A o G que se haya equilibrado con un tampón, tal como solución salina tamponada con fosfato (pH 7,4). La columna se lava para eliminar los componentes de unión inespecífica. El anticuerpo unido se eluye, por ejemplo, mediante un gradiente de pH (tal como tampón de fosfato de sodio 0,1 M pH 6,8 a tampón de citrato de sodio 0,1 M pH 2,5). Se detectan las fracciones de anticuerpos, tal como mediante SDS-PAGE, y luego se agrupan. La purificación adicional es optativa, dependiendo del uso previsto. El anticuerpo puede concentrarse y/o esterilizarse por filtración utilizando técnicas comunes. Otros materiales que no sean el anticuerpo, tal como la célula hospedadora y los componentes del medio de crecimiento, y los agregados solubles y multímeros del anticuerpo, pueden reducirse o eliminarse de forma eficaz mediante técnicas comunes, incluida la exclusión por tamaño, la interacción hidrófoba, el intercambio catiónico, el intercambio aniónico, la cromatografía de afinidad o hidroxipatita. La pureza del anticuerpo después de estas etapas de cromatografía es normalmente mayor del 95 %. El producto puede congelarse a -70 °C o puede liofilizarse.

El Anticuerpo 43 ejemplificado se expresó transitoriamente en células CHO después de la cotransfección de vectores de ADN de expresión de cadena pesada y cadena ligera separados que incorporaban las secuencias de ADN de la

SEQ ID NO: 20 y la SEQ ID NO: 21, respectivamente, o se expresó de forma estable en células CHO después de la transfección de un único vector de ADN que incorporaba las secuencias de ADN de la SEQ ID NO: 20 y de la SEQ ID NO: 21, que codificaban respectivamente la cadena pesada y la cadena ligera. Se clarificó el medio recogido de un cultivo transitorio de CHO de 7 días o de un cultivo en masa de CHO de 14 días y el sobrenadante en bruto resultante se purificó mediante cromatografía de Proteína A. El Anticuerpo 43 se unió a la resina de Proteína A y se eluyó utilizando tampón de pH bajo. El anticuerpo eluido se purificó adicionalmente utilizando cromatografía de exclusión por tamaño preparativa (SEC), para material producido a partir de CHO transitorias, o utilizando cromatografía de intercambio catiónico como etapa de depuración para material producido a partir de CHO estables. La pureza final del Anticuerpo 43 se evaluó mediante SDS-PAGE, SEC-HPLC analítica y análisis por LC/MS. Utilizando el análisis Endosafe-PTS se demostró que los niveles de endotoxinas eran de <1 UE/mg. El Anticuerpo 43 purificado se almacenó en PBS (solución salina tamponada con fosfato), pH 7,2 a 4 °C.

Afinidad de unión y cinética *in vitro*.

La cinética de unión y la afinidad del Anticuerpo 43 por la IL-33 humana, de mono cinomolgo, de ratón, de rata y de conejo se determina utilizando un ensayo de resonancia de plasmón superficial en un instrumento Biacore T100 o T200 preparado con tampón de ejecución HBS-EP+ (GE Healthcare, Hepes 10 mM pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 al 0,05 %) y temperatura de análisis ajustada a 37 °C. Se utiliza un chip CM4 que contiene Proteína A inmovilizada (generada utilizando acoplamiento de aminas de NHS-EDC convencional) en las cuatro celdas de flujo (Cf) para emplear un método de captura. Las muestras de anticuerpo se preparan a 10 µg/ml en tampón de ejecución. Se preparan muestras de IL-33 de ratón, rata y conejo a concentraciones finales de 1000, 500, 250, 125, 63, 31, 16 y 0 nM en tampón de ejecución. Se preparan muestras de IL-33 humana y de cinomolgo a concentraciones finales de 250, 125, 63, 31, 16, 8, 4, 2, 1 y 0 nM en tampón de ejecución. Cada ciclo de análisis implica las etapas de (1) capturar muestras de anticuerpo en celdas de flujo distintas (Fc2, Fc3 o Fc4); (2) inyectar 200 µl de IL-33 en todas las celdas de flujo a 100 µl/min; (3) volver al flujo de tampón durante un mínimo de 10 min a 100 µl/min para controlar la disociación del complejo; (4) regenerar la superficie del chip con dos inyecciones secuenciales de 7,5 microlitros de glicina, pH 1,5; y (5) equilibrar la superficie del chip durante 5 minutos antes de repetir el ciclo. Cada concentración de IL-33 se inyecta por duplicado. Los datos se procesan utilizando doble referenciación convencional y se ajustan a un modelo de unión 1:1 utilizando el programa informático Biacore T100 Evaluation, versión 2.0.1, para determinar la constante de asociación (constante de asociación, k_{on} , unidades de $M^{-1}s^{-1}$) y la constante de disociación (constante de disociación, k_{off} , unidades de s^{-1}). La constante de disociación en equilibrio (K_D) se calcula a partir de la relación $K_D = k_{off}/k_{on}$, y está en unidades molares. Se realizan tres repeticiones (n) experimentales para la unión del Anticuerpo 43 a IL-33 humana y de mono cinomolgo.

Siguiendo los procedimientos esencialmente como se describe anteriormente, el anticuerpo 43 tenía una respuesta de unión dependiente de la concentración a IL-33 humana y a IL-33 del mono cinomolgo. A la concentración más alta de IL-33 de ratón, rata y conejo inyectada (1000 nM), la señal de respuesta de unión no alcanzó la señal de respuesta semimáxima teórica. Como resultado, se estimó que la K_D del Anticuerpo 43 para IL-33 de ratón, rata y conejo era > 1000 nM. Se utilizaron métodos similares a los descritos anteriormente para determinar la cinética y la afinidad de unión del Anticuerpo 75 y el Anticuerpo 54. Además, se utilizaron métodos similares para determinar la cinética y la afinidad de unión de un anticuerpo IgG4 anti-IL-33 (no de la presente invención) que tiene las secuencias de HCVR y LCVR de APE4909 (divulgado en el documento WO15106080; denominado en el presente documento "Anticuerpo 6"). Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2: Cinética y afinidad de unión a IL-33 de anticuerpos de la presente invención y del Anticuerpo 6.

Anticuerpo	Antígeno	k_{on} ($M^{-1}s^{-1}$) prom. \pm DT	k_{off} (s^{-1}) prom. \pm DT	K_D (pM) prom. \pm DT	N
Anticuerpo 75*	IL-33 humana	$1,7 \pm 0,5 \times 10^6$	$2,6 \pm 0,1 \times 10^{-5}$	$14,5 \pm 1,5$	3
Anticuerpo 75*	IL-33 de cinomolgo	$1,7 \pm 0,6 \times 10^6$	$1,9 \pm 0,1 \times 10^{-2}$	12400 ± 4000	3
Anticuerpo 54*	IL-33 humana	$1,5 \pm 0,5 \times 10^6$	$6,8 \pm 1,3 \times 10^{-5}$	46 ± 9	3
Anticuerpo 54*	IL-33 de cinomolgo	$1,5 \pm 0,2 \times 10^6$	$3,4 \pm 0,5 \times 10^{-4}$	217 ± 50	3
Anticuerpo 43	IL-33 humana	$1,5 \pm 0,1 \times 10^6$	$7,2 \pm 1,7 \times 10^{-5}$	49614	3
Anticuerpo 43	IL-33 de cinomolgo	$15 \pm 0,2 \times 10^6$	$51 \pm 2,0 \times 10^{-5}$	338645	3
Anticuerpo 6*	IL-33 humana	$1,6 \pm 0,1 \times 10^6$	$4,0 \pm 0,9 \times 10^{-4}$	252 ± 73	2
Anticuerpo 6*	IL-33 de cinomolgo	$18 \pm 0,6 \times 10^6$	$1,3 \pm 0,1 \times 10^{-3}$	804 ± 377	2
Anticuerpo 43	IL-33 de ratón	$K_D > 1000$ nM			1

(continuación)

Anticuerpo	Antígeno	k_{on} ($M^{-1}s^{-1}$) prom. \pm DT	k_{off} (s^{-1}) prom. \pm DT	K_D (pM) prom. \pm DT	N
Anticuerpo 43	IL-33 de rata	$K_D > 1000$ nM			1
Anticuerpo 43	IL-33 de conejo	$K_D > 1000$ nM			1

* Analizado en días distintos.

Caracterización *in vitro* de la unión a IL-33 humana y otros miembros de la familia de IL-1.

- 5 El biosensor 2000 BIAcore se utiliza para demostrar la especificidad de unión del Anticuerpo 43 a la IL-33 humana y para mostrar que el anticuerpo ejemplificado no se une a otros miembros de la familia de proteínas IL-1 humanas.

La Oroteína A (Calbiochem) se acopla a través de grupos amina libres a grupos carboxilo en las celdas de flujo 1 y 2 de un chip biosensor CM5 (GE Healthcare) utilizando una mezcla de N-etil-N-(dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC) y N- hidroxisuccinimida (NHS). Para capturar anticuerpos de control positivo, se acopla IgG anti-cabra de conejo (específica de Fc) a la celda de flujo 3, y se acopla IgG anti-rata de conejo (específica de Fc) a la celda de flujo 4 (ambos de Jackson ImmunoResearch). Las celdas de flujo se verifican con un caudal de 30 μ l/minuto utilizando un tampón que contiene HEPES 0,01 M, pH 7,4, NaCl 150 mM, tensioactivo P20 al 0,005 %. El Anticuerpo 43 se captura en la celda de flujo 2 para producir un total de 300 a 800 unidades de respuesta (UR; los resultados reflejan la celda de flujo 2 menos la celda de flujo 1). Las pruebas de unión van seguidas de una etapa de regeneración utilizando glicina-HCl (pH 1,5) entre cada ciclo. La celda de flujo 1 se utiliza como control para verificar la unión no específica de los analitos analizados. El anticuerpo ejemplificado se analiza con todos los analitos de la familia de proteínas IL-1 humanas enumerados a una concentración de 500 nM.

- 20 Siguiendo los procedimientos esencialmente como se describe anteriormente, los resultados de la Tabla 3 muestran que el Anticuerpo 43 solo se une a IL-33 humana y no a los otros miembros de la familia IL-1.

Tabla 3: El anticuerpo 43 se une específicamente a IL-33.

Ligante	Unión del anticuerpo ejemplificado	Unión de control positivo
IL-33	Sí	
IL-1 α	No	Sí
IL-1 β	No	Sí
IL-1RA	No	Sí
IL-18	No	Sí
IL-36 α	No	Sí
IL-36 β	No	Sí
IL-36 γ	No	Sí
IL-36RA	No	Sí
IL-37	No	Sí

25 Neutralización de IL-33 en el ensayo indicador de GEC NF κ B-Luciferasa *in vitro*.

Se utilizan células endoteliales glomerulares (GEC) humanas transfectadas de forma estable con una construcción de NF κ B - luciferasa para determinar la capacidad del Anticuerpo 43 para inhibir la actividad de NF κ B inducida por IL-33. La línea GEC expresa de forma natural el receptor ST2 y su correceptor IL1RAP. En respuesta a IL-33 humana, la ruta de NF κ B se activa en las GEC.

Se cultivan células GEC-NF κ B-luc en medio de ensayo (medio EGM BulletKit (LONZA) más puromicina). El día anterior al ensayo, se siembran en placas células GEC-NF κ B-luc a 5.000 células en 50 μ l/pocillo en placas de paredes blancas tratadas con colágeno I (BD Biocoat) y las placas se incuban durante una noche.

35 Al día siguiente, las células se tratan con Anticuerpo 43 en presencia de IL-33. Para cada prueba, se añaden 25 μ l del anticuerpo ejemplificado por pocillo en un intervalo de dosis de 0 a 133,3 nM por pocillo. A continuación, se añaden 25 μ l de IL-33 humana a cada pocillo a una concentración final de 126 pM (basado en un PM =20 kDa). El ST2 monomérico humano (IL1RL1) se utiliza como control positivo en el ensayo en un intervalo de dosis de 0 a 142,9 nM (concentración final basada en un PM= 35 kDa), y se utiliza un anticuerpo de control de isotipo como control negativo

en el ensayo en un intervalo de dosis de 0 a 133,3 nM (concentración final basada en un PM= 75 kDa). Todas las muestras se procesan por triplicado. Las placas de 96 pocillos se incuban a 37 °C, humedad relativa del 95 %, CO₂ al 5 % durante 4 horas, después de lo cual se añaden 100 µl/pocillo de solución de luciferasa One-Glo para medir la actividad de luciferasa y las placas se leen en un luminómetro (Perkin Elmer Victor3). Los resultados se muestran a continuación en la Tabla 4.

Tabla 4: CI₅₀ (pM, prom. ± DT) del anticuerpo ejemplificado en el ensayo de actividad de NFκB-GEC-luciferasa *in vitro*.

Anticuerpo	CI ₅₀ de IL-33 humana	CI ₅₀ de IL33 de cinom.
Anticuerpo 43	330 ± 112	1918 ± 152
Anticuerpo 54*	139 ± 98	851 ± 500
Anticuerpo 75*	286 ± 67	n.d.
Anticuerpo 6*	292 ± 158	1031
Control positivo	426 ± 115	175 ± 21
* Analizado en un día distinto.		

10 Siguiendo los procedimientos esencialmente como se describe anteriormente, El anticuerpo 43 inhibe la actividad de NFκB inducida por IL-33 humana e IL-33 de cinom., pero no por IL-33 de ratón, rata o conejo de una manera dependiente de la dosis. La CI₅₀ promedio de tres experimentos independientes para neutralización de la humana y la de cinom. se resume en la Tabla 4. El anticuerpo de control negativo no inhibió la actividad de NFκB en células GEC-NFκB-luc a ninguna concentración analizada.

15 **Neutralización de la secreción de GM-CSF inducida por IL-33 a partir de mastocitos humanos *in vitro*.**

Se determina la inhibición de la liberación de GM-CSF inducida por IL-33 en mastocitos humanos mediante el tratamiento con el Anticuerpo 43. Se diferencian en cultivo mastocitos humanos que expresan de forma natural el receptor ST2 (IL1RL1) y su correceptor IL1RAP, a partir de células madre de sangre de cordón umbilical humanas utilizando medio StemSpan (StemCell) y SCF/IL-6. El día del ensayo, los mastocitos se siembran en placas a 50.000 células en 50 µl/pocillo en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos en medio de cultivo. Las células se tratan con IL-33 en presencia o ausencia de anticuerpos. Para cada prueba, se añaden 25 µl del anticuerpo ejemplificado 4X por pocillo en un intervalo de dosis de 0 a 30 nM. Se añaden 25 µl de IL-33 humana 4X a cada pocillo hasta una concentración final de 0,5 nM. Se utiliza medio de ensayo solo como control sin tratamiento y se utiliza un ST2 monomérico humano como control positivo en un intervalo de dosis de 0 a 30 nM. El anticuerpo de control de isotipo analizado a 30 nM se utiliza como control negativo. Las pruebas se realizan por triplicado. Las placas de 96 pocillos se colocan en una incubadora de cultivo de tejidos (37 °C, humedad relativa del 95 %, CO₂ al 5 %) durante 16 horas. Se recogen 100 µl/pocillo de sobrenadante para medir los niveles de GM-CSF mediante un ELISA comercial (R&D Systems).

30 Siguiendo los procedimientos esencialmente como se describe anteriormente, el anticuerpo 43 inhibió completamente la secreción de GM-CSF inducida por IL33 humana a partir de mastocitos humanos de una manera dependiente de la dosis, con una CI₅₀ de 0,3 nM, lo que fue mayor que la CI₅₀ de 7,6 nM para el receptor soluble de control positivo. En otro experimento similar, el anticuerpo 54 inhibió la secreción de GM-CSF inducida por IL33 humana a partir de mastocitos humanos con una CI₅₀ de 0,265 nM, y el Anticuerpo 6 inhibió la secreción de GM-CSF inducida por IL33 humana a partir de mastocitos humanos con una CI₅₀ de 0,811 nM. El anticuerpo de control de isotipo no inhibió la secreción de GM-CSF inducida por IL- 33. Los resultados son representativos de dos experimentos independientes.

40 **Inhibición de la producción de IL-5 inducida por IL-33 *in vivo*.**

Para confirmar la neutralización de IL-33 *in vivo*, para determinar si el Anticuerpo 43 es capaz de neutralizar la función de IL-33 humana e inhibir la producción de IL-5 de ratón *in vivo*, se les inyecta a ratones C57BL/6 (n=5) por vía intraperitoneal 0,94 mg/kg, 0,282 mg/kg o 0,094 mg/kg de anticuerpo, o un anticuerpo de control de isotipo a 0,94 mg/kg. Un día posinyección, los ratones se exponen a 0,025 mg/kg de IL-33 humana mediante inyección intraperitoneal. Seis horas posexposición a IL-33 humana, se sacrifican los ratones y se recolecta suero. El suero se analiza en cuanto a la producción de IL-5 de ratón utilizando un ELISA comercial (R&D Systems) según las instrucciones del fabricante.

50 Los resultados indicaron que el Anticuerpo 43 es capaz de inhibir completamente la producción de IL-5 de ratón de una manera dependiente de la dosis. Los niveles de IL-5 en el suero de ratones inyectados con 0,94 mg/kg, 0,282 mg/kg o 0,094 mg/kg del anticuerpo ejemplificado fueron respectivamente de 0,03±0,004 ng/ml, 0,166±0,036 ng/ml y 0,430±0,095 ng/ml. El anticuerpo de control negativo no inhibe la producción de IL-5 de ratón inducida por IL-33 humana. Estos datos demuestran que el Anticuerpo 43 inhibe la producción de IL-5 de ratón a través de la

neutralización de IL-33 humana *in vivo*.

Eficacia *in vivo* de un anticuerpo para IL-33 de ratón sustituto en un modelo de inflamación de las vías respiratorias

5 Se desarrolla un anticuerpo sustituto para neutralizar la IL-33 de ratón (IL-33r) para su uso en modelos preclínicos de enfermedad. El sustituto es un anticuerpo monoclonal IgG1 murino que neutraliza a IL-33r en ensayos *in vitro*. Se determina *in vivo* la capacidad de la administración sistémica del anticuerpo anti-IL-33r de afectar la respuesta inflamatoria de las vías respiratorias a la exposición a *Alternaria*. En el día 0 se les inyectan por vía subcutánea a ratones BALB/c hembra (n=5 por grupo) 25 mg/kg de anticuerpo anti-IL-33r o de control de isotipo. ST2-Fc de ratón, una forma soluble de uno de los correceptores para IL-33 que puede neutralizar a IL-33r en ensayos *in vitro* (control positivo), se inyecta a 12,5 mg/kg por vía intraperitoneal en los días 1 y 2, 30 minutos antes de la administración de *Alternaria*. Se administra a cada ratón extracto de *Alternaria* (50 µg en 20 µl de PBS) por vía intranasal los días 1 y 2. Los ratones se sacrifican el día 3 con inhalación de CO₂ y se recolecta inmediatamente sangre mediante punción cardíaca para la preparación de suero.

Se prepara líquido de lavado broncoalveolar (LBA) lavando los pulmones con 10 lavados (500 µl cada lavado) de inyección de PBS y extracción a través de una cánula en la tráquea expuesta de cada ratón. El líquido del LBA se centrifuga a 200 g durante 10 minutos y el sobrenadante se retira y se congela. Las células se resuspenden en 1 ml de tampón ACK (Sigma) para lisar los glóbulos rojos, se lavan y se resuspenden en 0,5 ml de PBS para el recuento. Se recuentan los eosinófilos utilizando líquido de dilución de eosinófilos y tinción (ENG Scientific, Cat. ES-3101) y las células totales se recuentan con azul tripano. El líquido del LBA se somete a ensayo utilizando ELISA de IL-5 de ratón comercial y de quitinasa 3 de tipo 3/YM1 (Chi3L3/YM1) (R&D Systems) y en cuanto a la exposición a anticuerpos. Los resultados se muestran a continuación en la Tabla 5.

25

Tabla 5: Niveles de IL-5 y Chi3L3/YM1, y número de eosinófilos y número total de células en el líquido de LBA.

Células/Citocinas	Sin exposición	Control de Isotipo	Anti-IL-33r	Control positivo
Eosinófilos (n.º de células)	32000 ± 13565	340000 ± 70711	120000 ± 51769	112000 ± 57480
IL-5 (pg/ml)	2 ± 0	69,6 ± 27,31	2 ± 0	9,2 ± 6,248
Chi3L3/YM1 (ng/ml)	17,4 ± 2,064	108,6 ± 28,7	27,4 ± 4,986	37,4 ± 6,313
Células totales (n.º de células)	104000 ± 20396	408000 ± 95833	144000 ± 31241	152000 ± 44989

30 Siguiendo los procedimientos esencialmente como se describe anteriormente, La exposición a *Alternaria* aumentó el número de células, principalmente de eosinófilos, presente en el líquido del LBA. Además, indujo la producción de citocinas tales como IL-5 y Chi3L3/YM1. La administración sistémica del anticuerpo anti-IL-33r redujo significativamente la infiltración celular total y de eosinófilos, medida por los recuentos de células del LBA, y disminuyó los niveles de IL-5 y Chi3L3/YM1 en el líquido del LBA. Estos resultados demuestran que la inhibición de IL-33r redujo múltiples marcadores inflamatorios en este modelo de inflamación de las vías respiratorias.

35 Mapeo epitópico por cristalografía de rayos X

Cristalografía de rayos X

40 Una solución de 10,6 mg/ml de complejo IL33h:FAB se criba en cuanto a cristales utilizando placas de cristalización hechas a medida y disponibles en el mercado. Los experimentos de difusión de vapor se configuran a 22 °C como gotas de cristalización de 400 nl + 400 nl (proteína + solución de pocillo) con 50 µl de solución de pocillo (sulfato de amonio 0,2 M y polietilenglicol 8.000 al 30 % p/v) en una placa de gota sentada MRC2 (SWISSCI). Se añade acetato de magnesio 20 mM a la proteína para ayudar a la cristalización. Los cristales resultantes se congelan instantáneamente en nitrógeno líquido después de una inmersión rápida en una solución de pocillo que contiene etilenglicol al 20 % añadido como agente criogénico. Los datos de difracción de rayos X se recopilan utilizando radiación de sincrotrón en LRL-CAT 31-ID (Advanced Photon Source, Argonne, IL). Se recopilan 180 fotogramas con una oscilación de 1° a una longitud de onda de 0,97931 Å y se procesan con paquetes CCP41.

50 Los cristales son del grupo espacial P21212 con dimensiones de celda unitaria a=70,1 Å b=194,9 Å c=46,5 Å α=β=γ=90°. Se obtiene una solución de reemplazo molecular del complejo IL33h:FAB con Phaser2 utilizando modelos de entrada de la estructura del PDB 4KC3 y un modelo del FAB generado con la herramienta de modelado de anticuerpos MOE3 (v2014.9). La solución de sustitución molecular contiene 1 complejo en la unidad asimétrica. Posteriormente, esta solución se somete a múltiples rondas de refinamiento y de construcción de modelos con Buster4 y Coot5, produciendo una estructura final con Rwork del 17,8 % y Rfree del 20,3 % a 1,40 Å.

55 El epitopo de IL33h se mapea para la estructura cristalina de alta resolución del complejo IL33h:FAB utilizando la herramienta Protein Contacts en MOE3 (v2015.10). La herramienta se utiliza para evaluar las interacciones "distancia",

"covalente", "areno", "iónica" y "enlace de hidrógeno". El resultado para las interacciones intercatenarias se depura hasta el nivel de resto en Microsoft Excel para identificar los restos del epítipo de IL33h. El listado final contiene restos de IL33h que se encuentran dentro de los 4,5 Å de cualquier resto del FAB.

5 Siguiendo un procedimiento esencialmente como se describe anteriormente, un anticuerpo que tiene las mismas CDR que el Anticuerpo 75 se pone en contacto con la IL-33 humana en un epítipo proporcionado por los siguientes restos de la SEQ ID NO: 19: Ser en la posición 23; Pro en la posición 24; Ile en la posición 25; Thr en la posición 26; Glu en la posición 27; Tyr en la posición 28; Leu en la posición 29; Tyr en la posición 69; Glu en la posición 71; Val en la posición 83; Asp en la posición 84; Lys en la posición 86; Leu en la posición 88; Leu en la posición 126; Asn en la posición 128; Met en la posición 129; Asn en la posición 132; Cys en la posición 133; Val en la posición 134; Glu en la posición 175; y Thr en la posición 176. El Anticuerpo 54 y el Anticuerpo 43 también se ponen en contacto con un epítipo sustancialmente similar en la IL-33 humana.

Secuencias

15

HC del anticuerpo 75 (SEQ ID NO: 1)

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG
 GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTLHGIRAAAYDA
 FIIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
 SGALTSQGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKR
 VESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEV
 QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
 KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
 ESGNQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNH
 YTQKSLSLSLG

20

LC del anticuerpo 75 (SEQ ID NO: 2)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRAT
 GIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYCHQYSQSPPTFTGGGKVEIKRTVAA
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
 SKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

25

HCVR del anticuerpo 75 (SEQ ID NO: 3)

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG
 GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTLHGIRAAAYDA
 FIIWGQGTLVTVSS

LCVR del anticuerpo 75 (SEQ ID NO: 4)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRAT
 GIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYCHQYSQSPPTFTGGGKVEIK

30

HC del anticuerpo 54 (SEQ ID NO: 5)

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSFYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG
GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTLHGIRAAAYDA

FIIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKR
VESKYGPPCPPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEV
QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW
QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGLG

LC del anticuerpo 54 (SEQ ID NO: 6)

5

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRLT
GIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYCHQYSQPPPFTEGGGTKVEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYLSSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

HCVR del anticuerpo 54 (SEQ ID NO: 7)

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSFYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG
GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTLHGIRAAAYDA
FIIWGQGTLVTVSS

10

LCVR del anticuerpo 54 (SEQ ID NO: 8)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRLT
GIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYCHQYSQPPPFTEGGGTKVEIK

HC del anticuerpo 43 (SEQ ID NO: 9)

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSFYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG
GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTIHGIRAAAYDA
FIIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKR
VESKYGPPCPPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEV
QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

ESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSLG

LC del anticuerpo 43 (SEQ ID NO: 10)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRLT
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYSQPPPTFGGGTKVEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

HCVR del anticuerpo 43 (SEQ ID NO: 11)

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSFYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG
GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTIHGIRAAAYDA
FIIWGQGTLVTVSS

10

LCVR del anticuerpo 43 (SEQ ID NO: 12)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRLT
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYSQPPPTFGGGTKVEIK

15

HCDR1 (SEQ ID NO: 13)

GFTFSXYAMS
En donde X en la posición 6 es S o F.

20

HCDR2 (SEQ ID NO: 14)

AISGSGGSTYYADSVKG

25

HCDR3 (SEQ ID NO: 15)

TXHGIRAAAYDAFII
En donde X en la posición 2 es L o I.

LCDR1 (SEQ ID NO: 16)

RASQSVGINLS

30

LCDR2 (SEQ ID NO: 17)

GASHRXT

En donde X en la posición 6 es A o L.

LCDR3 (SEQ ID NO: 18)

HQYSQXPPFT

5 En donde X en la posición 6 es S o P.

Aminoácidos de IL-33 humana 95-270 (SEQ ID NO: 19)

AFGISGVQKYTRALHDSSITGISPITEYLASLSTYNDQSITFALEDESYEIYVEDLKK
DEKKDKVLLSYYESQHPSNESGDGVDGKMLMVTLSPKDFWLHANNKEHSVEL
HKCEKPLPDQAFFVLHNMHSNCVSFECKTDPGVFIGVKDNHLALIKVDSSENLCT
ENILFKLSET

10

ADN que codifica la HC de la SEQ ID NO: 9 (SEQ ID NO: 20)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGAGGAGGCTTGATCCAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCTTTTATGCTATGAGCT
GGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG
TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGATTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCT
CCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGC
CGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAACGATCCACGGTATACGCGCA
GCCTATGATGCTTTTATTATCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCCTC
AGCTTCTACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCA
CCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA
ACCGGTGACGGTGTCTGTTGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACC
TTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC
CGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAC
AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCAAATATGGTCCCC
CATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGGACCATCAGTCTTCCTG
TTCCCCCAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAC

GTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGG
TACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG
CAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGA
CTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCG
TCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCAC
AGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAG
CCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGG
GAAAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGG
ACTCCGACGGCTCCTTCTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAG
GTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC
AACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

ADN que codifica la LC de la SEQ ID NO: 10 (SEQ ID NO: 21)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG
AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTGGCATCAACTTGTCTGGT
ACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCCAT
AGGCTAACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACT
TCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGT
CATCAATATAGTCAACCACCTCCCTTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGG
AGATCAAACGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT
GAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTA
TCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGT
AACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGC
CTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCT
ACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCTT
5 CAACAGGGGAGAGTGC

LISTADO DE SECUENCIAS

- 10 <110> Eli Lilly and Company
- <120> ANTICUERPOS ANTI-IL-33 Y USOS DE LOS MISMOS
- <130> X21037
- 15 <150> US 62/414258
- <151> 28/10/2016
- <160> 21

ES 2 878 037 T3

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 449

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10

<223> Construcción sintética

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Thr Leu His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

ES 2 878 037 T3

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp

ES 2 878 037 T3

405

410

415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Gly

- <210> 2
- <211> 215
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Construcción sintética
- <400> 2

ES 2 878 037 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ile Asn
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser His Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Gln Ser Pro Pro
 85 90 95
 Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110
 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125
 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140
 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160
 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175
 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 3
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

5

ES 2 878 037 T3

<223> Construcción sintética

<400> 3

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Thr Leu His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5

<210> 4

<211> 108

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15 <400> 4

ES 2 878 037 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ile Asn
 20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser His Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Gln Ser Pro Pro
 85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 5
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 5

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Phe Tyr
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

5

10

ES 2 878 037 T3

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Thr Leu His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 115 120 125
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
 130 135 140
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 145 150 155 160
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 165 170 175
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 180 185 190
 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
 195 200 205
 Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
 210 215 220
 Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu

ES 2 878 037 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ile Asn
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser His Arg Leu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Gln Pro Pro Pro
 85 90 95
 Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110
 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125
 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140
 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160
 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175
 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 7
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

ES 2 878 037 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ile Asn
 20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser His Arg Leu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Gln Pro Pro Pro
 85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 9
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Construcción sintética

10

<400> 9

ES 2 878 037 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Phe Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Thr Ile His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 115 120 125
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
 130 135 140
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 145 150 155 160
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 165 170 175
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 180 185 190
 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
 195 200 205
 Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
 210 215 220
 Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

ES 2 878 037 T3

				245						250						255
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	
			260					265					270			
Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	
		275					280					285				
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	
	290					295					300					
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	
305					310					315					320	
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	
				325					330					335		
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	
			340					345					350			
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	
		355					360					365				
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	
	370					375					380					
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	
385					390					395					400	
Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	
				405					410					415		
Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	
			420					425					430			
Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	
		435					440					445				

Gly

<210> 10
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

5

10

ES 2 878 037 T3

<400> 10

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ile Asn
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser His Arg Leu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Gln Pro Pro Pro
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

5 <210> 11
<211> 123
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

5 <400> 11

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Phe Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Thr Ile His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

10 <210> 12
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 12

ES 2 878 037 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ile Asn
 20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser His Arg Leu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Gln Pro Pro Pro
 85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

- <210> 13
- <211> 10
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Construcción sintética
- <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (6)..(6)
- 15 <223> Xaa en la posición 6 es Ser o Phe
- <400> 13

Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Tyr Ala Met Ser
 1 5 10

- 20 <210> 14
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 25 <220>
- <223> Construcción sintética
- <400> 14

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

30 Gly

<210> 15
 <211> 14
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa en la posición 2 es Leu o Ile

 15 <400> 15

Thr	Xaa	His	Gly	Ile	Arg	Ala	Ala	Tyr	Asp	Ala	Phe	Ile	Ile
1				5					10				

 <210> 16
 <211> 11
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial

 <220>
 25 <223> Construcción sintética

 <400> 16

Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Gly	Ile	Asn	Leu	Ser
1				5					10	

 30 <210> 17
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 35 <220>
 <223> Construcción sintética

 <220>
 40 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa en la posición 6 es Ala o Leu

 <400> 17

Gly	Ala	Ser	His	Arg	Xaa	Thr
1				5		

 <210> 18
 <211> 10
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción sintética

 55 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa en la posición 6 es Ser o Pro

 60

ES 2 878 037 T3

<400> 18

His Gln Tyr Ser Gln Xaa Pro Pro Phe Thr
 1 5 10

5 <210> 19
 <211> 176
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 19

Ala Phe Gly Ile Ser Gly Val Gln Lys Tyr Thr Arg Ala Leu His Asp
 1 5 10 15

Ser Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu
 20 25 30

Ser Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser
 35 40 45

Tyr Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys
 50 55 60

Val Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly
 65 70 75 80

Asp Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys
 85 90 95

Asp Phe Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His
 100 105 110

Lys Cys Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn
 115 120 125

Met His Ser Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val
 130 135 140

Phe Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Ser
 145 150 155 160

Ser Glu Asn Leu Cys Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Thr
 165 170 175

15 <210> 20
 <211> 1347
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 878 037 T3

<223> Construcción sintética

<400> 20

5

gaggtgcagc tgggtggagac tggaggaggc ttgatccagc ctggggggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc ttttatgcta tgagctgggt ccgccaggct	120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac	180
gcagattccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
cttcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaacgatac	300
cacggtatac ggcgagccta tgatgctttt attatctggg gccagggcac cctggtcacc	360
gtctcctcag cttctaccaa gggcccatcg gtcttcccg tagcgccctg ctccaggagc	420
acctccgaga gcacagccgc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccgggtg	480
acggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta	540
cagtcctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc	600
acgaagacct acacctgcaa cgtagatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga	660
gttgagtcca aatatggtcc cccatgccca ccctgccag cacctgaggc cgccggggga	720
ccatcagtct tcctgttccc cccaaaacct aaggacactc tcatgatctc ccggaccct	780
gaggtcacgt gcgtgggtgt ggacgtgagc caggaagacc ccgaggtcca gttcaactgg	840
tacgtggatg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc gcggggagga gcagttcaac	900
agcacgtacc gtgtggctcag cgtcctcacc gtccctgacc aggactggct gaacggcaag	960
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccgtcct ccatcgagaa aacctctcc	1020
aaagccaaag ggcagccccg agagccacag gtgtacaccc tgccccatc ccaggaggag	1080
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctacc cagcgacatc	1140
gccgtggagt gggaaagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg	1200
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaggctaa ccgtggacia ggcaggtgg	1260
caggagggga atgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacia ccactacaca	1320
cagaagagcc tctccctgtc tctgggt	1347

<210> 21

10 <211> 645

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Construcción sintética

<400> 21

ES 2 878 037 T3

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc	60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttggc atcaacttgt cctggtacca gcagaaacct	120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatcccata ggctaactgg catcccagac	180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag actggagcct	240
gaagatthtg cagtgtatta ctgtcatcaa tatagtcaac cacctccctt cactttcggc	300
ggagggacca aggtggagat caaacggacc gtggctgcac catctgtctt catcttcccg	360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc	480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg	540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag	600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc	645

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo que se une a IL-33 humana, que comprende dos LCCR1, cada una de la SEQ ID NO: 16, dos LCCR2, cada una de la SEQ ID NO: 17, dos LCCR3, cada una de la SEQ ID NO: 18, dos HCCR1, cada una de la SEQ ID NO: 13, dos HCCR2, cada una de la SEQ ID NO: 14, y dos HCCR3, cada una de la SEQ ID NO: 15, en donde cada LCVR es la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 8 o la SEQ ID NO: 12, y cada HCVR es la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 11.
- 10 2. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde cada LCVR es la SEQ ID NO: 4 y cada HCVR es la SEQ ID NO: 3.
3. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde cada LCVR es la SEQ ID NO: 8 y cada HCVR es la SEQ ID NO: 7.
4. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde cada LCVR es la SEQ ID NO: 12 y cada HCVR es la SEQ ID NO: 11.
- 15 5. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde cada LC es la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 6 o la SEQ ID NO: 10, y cada HC es la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 5 o la SEQ ID NO: 9.
6. El anticuerpo de la reivindicación 5, en donde cada LC es la SEQ ID NO: 2 y cada HC es la SEQ ID NO: 1.
- 20 7. El anticuerpo de la reivindicación 5, en donde cada LC es la SEQ ID NO: 6 y cada HC es la SEQ ID NO: 5.
8. El anticuerpo de la reivindicación 5, en donde cada LC es la SEQ ID NO: 10 y cada HC es la SEQ ID NO: 9.
- 25 9. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, y uno o más transportadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.
10. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en terapia.
- 30 11. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para su uso en el tratamiento de una o más enfermedades alérgicas.
12. El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la enfermedad alérgica es dermatitis atópica, asma, rinitis alérgica o alergia alimentaria.
- 35 13. El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la enfermedad alérgica es dermatitis atópica.
- 40 14. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para su uso en el tratamiento de la esofagitis eosinofílica, la esclerodermia/esclerosis generalizada, la colitis ulcerosa o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
15. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Crohn.