

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 938 359**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/395** (2006.01)

**C07K 16/40** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.04.2016 PCT/US2016/026038**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.10.2016 WO16164358**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.04.2016 E 16777134 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.11.2022 EP 3280440**

54 Título: **Anticuerpos humanizados anti-C1s y métodos de uso de los mismos**

30 Prioridad:

**06.04.2015 US 201562143636 P**  
**04.08.2015 US 201562200997 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**10.04.2023**

73 Titular/es:

**BIOVERATIV USA INC. (100.0%)**  
**951 Gateway Boulevard**  
**South San Francisco, California 94080, US**

72 Inventor/es:

**PANICKER, SANDIP y**  
**PARRY, GRAHAM**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 938 359 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 humanizados anti-C1s y métodos de uso de los mismos

**REFERENCIA CRUZADA**

5 La presente solicitud reivindica el beneficio de las solicitudes de patente provisionales de EE. UU. N.º 62/143.636, presentada el 6 de abril de 2015, y 62/200.997, presentada el 4 de agosto de 2015.

**INTRODUCCIÓN**

10 El sistema del complemento es un mecanismo efector bien conocido de la respuesta inmunitaria, que proporciona no solo protección contra patógenos y otros agentes perjudiciales, sino también recuperación de una lesión. La vía del complemento comprende varias proteínas que normalmente existen en el cuerpo en forma inactiva. La vía clásica del complemento es desencadenada por la activación del primer componente del complemento, denominado el complejo C1, que consiste en las proteínas C1q, C1r y C1s. Tras la unión de C1 a un inmunocomplejo u otro activador, el componente C1s, una serina proteasa sensible al fluorofosfato de diisopropilo (DFP), escinde los componentes del complemento C4 y C2 para iniciar la activación de la vía clásica del complemento. La vía clásica del complemento parece desempeñar una función en muchas enfermedades y trastornos. El documento de patente WO 2014/066744 A2 desvela el anticuerpo específico de C1s IPN-M2.

**SUMARIO**

20 La invención se explica en el conjunto de reivindicaciones adjunto. Se considera que las realizaciones y/o ejemplos de la siguiente descripción que no están cubiertos por las reivindicaciones adjuntas no son parte de la presente invención. Cualquier referencia a métodos de tratamiento en los párrafos posteriores de esta descripción se debe interpretar como referencias a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para el uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) por terapia (o para diagnóstico).

25 La presente invención proporciona un anticuerpo humanizado que se une específicamente al componente del complemento C1s, en donde el anticuerpo comprende una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 14 y una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: Este anticuerpo se entiende siempre que se haga referencia en el presente documento a "el anticuerpo de la invención", o a "el anticuerpo anti-C1s humanizado de la invención", o a "el anticuerpo C1s humanizado de la invención". La presente invención proporciona composiciones que comprenden dicho anticuerpo anti-C1s humanizado de la invención.

30 La presente invención proporciona el uso de dicho anticuerpo anti-C1s humanizado de la invención en el tratamiento de trastornos mediados por el complemento.

35 La presente invención proporciona un anticuerpo humanizado que se une específicamente al componente del complemento C1s, en donde el anticuerpo comprende: a) una región VH que comprende SEQ ID NO:14; y b) una región VL que comprende SEQ ID NO:22. En algunos casos, el anticuerpo humanizado se selecciona del grupo que consiste en un fragmento Fab, un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, un scFv y un Fv. En algunos casos, el anticuerpo humanizado comprende una región constante de la cadena pesada del isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.

La presente invención proporciona una composición que comprende: a) un anticuerpo humanizado como se ha descrito anteriormente y b) un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos, la composición comprende uno o más de un agente de tonicidad, un agente de suspensión, un agente emulsionante, un estabilizador, un conservante, un lioprotector, un tensioactivo y un azúcar.

40 La presente invención proporciona un anticuerpo humanizado de la invención para el uso en el tratamiento de un trastorno mediado por el complemento. En algunos usos, se reduce el nivel de un producto de escisión del componente del complemento en un individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano del individuo), en donde el uso comprende administrar al individuo un anticuerpo humanizado de la presente invención como se describe, o una composición de la presente invención como se ha descrito anteriormente, en una cantidad eficaz para inhibir C1s y para reducir el nivel del producto de escisión. En algunos casos, el producto de escisión del componente del complemento es un producto de escisión C4 (por ejemplo, C4b). En algunos casos, el producto de escisión del componente del complemento es un producto de escisión C2 (por ejemplo, C2a). En algunos casos, el producto de escisión del componente del complemento es un producto de escisión C3. En algunos casos, el individuo es un ser humano. En algunos casos, la administración es intravenosa. En algunos casos, la administración es intramuscular. En algunos casos, la administración es intratecal. En algunos casos, la administración es subcutánea. En algunos casos, la reducción del nivel de un producto de escisión del componente del complemento es eficaz para tratar un trastorno mediado por el complemento. En algunos casos, el trastorno mediado por el complemento es un trastorno aloinmunitario. En algunos casos, el trastorno mediado por el complemento es un trastorno autoinmunitario.

55 La presente invención proporciona un anticuerpo humanizado de la invención para el uso en el tratamiento de un trastorno mediado por el complemento. En algunos usos del anticuerpo humanizado como se ha descrito

- anteriormente, se inhibe la escisión mediada por C1s de un componente del complemento en un individuo, en donde el uso comprende administrar al individuo un anticuerpo humanizado de la presente invención como se ha descrito anteriormente, o una composición de la presente invención como se ha descrito anteriormente, en una cantidad eficaz para inhibir la escisión mediada por C1s de un componente del complemento. En algunos casos, el individuo es un ser humano. En algunos casos, la administración es intravenosa. En algunos casos, la administración es intramuscular. En algunos casos, la administración es intratecal. En algunos casos, la administración es subcutánea. En algunos casos, la inhibición de la escisión mediada por C1s de un componente del complemento es eficaz para tratar un trastorno mediado por el complemento. En algunos casos, el trastorno mediado por el complemento es un trastorno aloinmunitario. En algunos casos, el trastorno mediado por el complemento es un trastorno autoinmunitario.
- La presente invención proporciona un anticuerpo humanizado de la invención para el uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por el complemento en un individuo, comprendiendo el uso administrar al individuo un anticuerpo humanizado de la presente invención como se ha descrito anteriormente, o una composición de la presente invención como se ha descrito anteriormente, en una cantidad eficaz para tratar la enfermedad o trastorno mediado por el complemento. En algunos casos, el producto de escisión del componente del complemento es un producto de escisión C3. En algunos casos, el individuo es un ser humano. En algunos casos, la administración es intravenosa. En algunos casos, la administración es intramuscular. En algunos casos, la administración es intratecal. En algunos casos, la administración es subcutánea. En algunos casos, la reducción del nivel de un producto de escisión del componente del complemento es eficaz para tratar un trastorno mediado por el complemento. En algunos casos, el trastorno mediado por el complemento es un trastorno aloinmunitario. En algunos casos, el trastorno mediado por el complemento es un trastorno autoinmunitario.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- La **FIG. 1** representa una secuencia de aminoácidos de la variante de VH humanizada 1 (SEQ ID NO: 10) y una secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 11) que codifica la misma.
- La **FIG. 2** representa una secuencia de aminoácidos de la variante de VH humanizada 2 (SEQ ID NO: 12) y una secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 13) que codifica la misma.
- La **FIG. 3** representa una secuencia de aminoácidos de la variante de VH humanizada 3 (SEQ ID NO: 14) y una secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 15) que codifica la misma.
- La **FIG. 4** representa una secuencia de aminoácidos de la variante de VH humanizada 4 (SEQ ID NO: 16) y una secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 17) que codifica la misma.
- La **FIG. 5** representa una secuencia de aminoácidos de la variante de VH humanizada 5 (SEQ ID NO: 18) y una secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 19) que codifica la misma.
- La **FIG. 6** representa una secuencia de aminoácidos de la variante de Vk humanizada 1 (SEQ ID NO:20) y una secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO:21) que codifica la misma.
- La **FIG. 7** representa una secuencia de aminoácidos de la variante de Vk humanizada 2 (SEQ ID NO:22) y una secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO:23) que codifica la misma.
- La **FIG. 8** representa una secuencia de aminoácidos de la variante de Vk humanizada 5 (SEQ ID NO:24) y una secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO:25) que codifica la misma.
- La **FIG. 9** proporciona la Tabla 2, que muestra diferencias de aminoácidos entre VH parental de TNT005 y variantes de VH humanizadas a modo de ejemplo .
- La **FIG. 10** proporciona la Tabla 3, que muestra diferencias de aminoácidos entre VL parental de TNT005 y variantes de VL humanizadas a modo de ejemplo.
- La **FIG. 11** proporciona la Tabla 4, que muestra propiedades de unión de variantes humanizadas de TNT005. Se muestran datos para la unión directa a C1s activado ("aC1s"), unión por competición con TNT005 biotinilado 50 pM ("Biot-005") e inhibición de la vía clásica del complemento.
- La **FIG. 12** proporciona la Tabla 5, que muestra propiedades de unión de variantes humanizadas de TNT005. Se proporcionan datos de afinidad para la unión de variantes humanizadas de TNT005 a C1s humano activo.
- La **FIG. 13** proporciona una secuencia de aminoácidos de C1s humano.
- La **FIG. 14** representa un perfil farmacocinético (FC) de una variante humanizada de TNT005 en macacos cangrejeros administrados en la fase 1 (día 1 - día 43).
- La **FIG. 15** representa un perfil farmacocinético de una variante humanizada de TNT005 en macacos cangrejeros administrados en la fase 1 (día 32 - día 43).

La **FIG. 16** representa la actividad de la vía clásica de suero de macacos cangrejeros administrados en la fase 1 (día 1 - día 43).

La **FIG. 17** representa un perfil FC y farmacodinámico (FD) de una variante humanizada de TNT005 en macacos cangrejeros administrados en la fase 2 (administración subcutánea diaria de 4 mg/kg durante 7 días).

## 5 DEFINICIONES

Los términos "anticuerpos" e "inmunoglobulina" incluyen anticuerpos o inmunoglobulinas de cualquier isotipo, fragmentos de anticuerpos que retienen la unión específica al antígeno, que incluyen, pero no se limitan a, fragmentos Fab, Fv, scFv y Fd, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos monocatenarios (scAb), anticuerpos de un solo dominio (dAb), anticuerpos de cadena pesada de un solo dominio, anticuerpos de cadena ligera de un solo dominio, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos multiespecíficos y proteínas de fusión que comprenden una porción de unión al antígeno (también denominada en el presente documento unión al antígeno) de un anticuerpo y una proteína no de anticuerpo. Los anticuerpos pueden estar marcados detectablemente, por ejemplo, con un radioisótopo, una enzima que genera un producto detectable, una proteína fluorescente y similares. Los anticuerpos pueden ser conjugados adicionalmente con otros restos, tales como miembros de pares de unión específica, por ejemplo, biotina (miembro del par de unión específico de biotina-avidina) y similares. Los anticuerpos también se pueden unir a un soporte sólido, que incluye, pero no se limita a, placas o perlas de poliestireno, y similares. También están englobados por el término Fab', Fv, F(ab')<sub>2</sub> y u otros fragmentos de anticuerpos que retienen la unión específica al antígeno, y anticuerpos monoclonales. Como se usa en el presente documento, un anticuerpo monoclonal es un anticuerpo producido por un grupo de células idénticas, todos los cuales se produjeron a partir de una única célula por replicación celular repetitiva. Es decir, el clon de células solo produce una única especie de anticuerpo. Mientras que un anticuerpo monoclonal se puede producir usando tecnología de producción de hibridomas, también se pueden usar otros métodos de producción conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, anticuerpos derivados de bibliotecas de presentación en fagos de anticuerpos). Un anticuerpo puede ser monovalente o bivalente. Un anticuerpo puede ser un monómero de Ig, que es una molécula en "forma de Y" que consiste en cuatro cadenas de polipéptidos: dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras conectadas por enlaces disulfuro.

El término "inmunoglobulina humanizada" o "anticuerpo humanizado", como se usa en el presente documento, se refiere a una inmunoglobulina que comprende porciones de inmunoglobulinas de origen diferente, en donde al menos una porción comprende secuencias de aminoácidos de origen humano. Por ejemplo, el anticuerpo humanizado puede comprender porciones derivadas de una inmunoglobulina de origen no humano con la especificidad requerida, tal como un ratón, y de secuencias de inmunoglobulina de origen humano (por ejemplo, inmunoglobulina quimérica), unidas juntas químicamente por técnicas convencionales (por ejemplo, sintéticas) o preparadas como un polipéptido contiguo usando técnicas de ingeniería genética (por ejemplo, se puede expresar ADN que codifica las porciones de proteína del anticuerpo quimérico para producir una cadena contigua de polipéptidos). Otro ejemplo de una inmunoglobulina humanizada es una inmunoglobulina que contiene una o más cadenas de inmunoglobulina que comprenden una CDR derivada de un anticuerpo de origen no humano y una región estructural derivada de una cadena ligera y/o pesada de origen humano (por ejemplo, anticuerpos injertados en CDR con o sin cambios en la región estructural). Los anticuerpos monocatenarios quiméricos o injertados en CDR también están englobados por el término inmunoglobulina humanizada. Véanse, por ejemplo, Cabilly et al., patente de EE. UU. N.º 4.816.567; Cabilly et al., patente europea N.º 0.125.023 B1; Boss et al., patente de EE. UU. N.º 4.816.397; Boss et al., patente europea N.º 0.120.694 B1; Neuberger, M. S. et al., documento de patente WO 86/01533; Neuberger, M. S. et al., patente europea N.º 0,194,276 B1; Winter, patente de EE. UU. N.º 5.225.539; Winter, patente europea N.º 0.239.400 B1; Padlan, E. A. et al., solicitud de patente europea N.º 0.519.596 A1. Véase también Ladner et al., patente de EE. UU. N.º 4,946,778; Huston, patente de EE. UU. N.º 5.476.786; y Bird, R. E. et al., *Science*, 242: 423-426 (1988)), con respecto a anticuerpos monocatenarios.

Por ejemplo, se pueden producir inmunoglobulinas humanizadas usando ácidos nucleicos sintéticos y/o recombinantes para preparar genes (por ejemplo, ADNc) que codifican la cadena humanizada deseada. Por ejemplo, se pueden construir secuencias de ácido nucleico (por ejemplo, ADN) que codifican regiones variables humanizadas usando métodos de mutagénesis por PCR para alterar las secuencias de ADN que codifican una cadena humana o humanizada, tal como un molde de ADN de una región variable previamente humanizada (véase, por ejemplo, Kamman, M., et al., *Nucl. Acids Res.*, 17: 5404 (1989)); Sato, K., et al., *Cancer Research*, 53: 851-856 (1993); Daugherty, B. L. et al., *Nucleic Acids Res.*, 19(9): 2471-2476 (1991); y Lewis, A. P. y J. S. Crowe, *Gene*, 101: 297-302 (1991)). Usando estos u otros métodos adecuados, también se pueden producir fácilmente variantes. Por ejemplo, las regiones variables clonadas pueden ser mutagenizadas, y se pueden seleccionar secuencias que codifican variantes con la especificidad deseada (por ejemplo, de una biblioteca de fagos; véanse, por ejemplo, Krebber et al., la patente de EE. UU. N.º 5.514.548; Hoogenboom et al., documento de patente WO 93/06213, publicado el 1 de abril de 1993)).

"Fragmentos de anticuerpos" comprenden una porción de un anticuerpo intacto, por ejemplo, la región de unión al antígeno o variable del anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> y Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales (Zapata et al., *Protein Eng.* 8(10): 1057-1062 (1995)); anticuerpos de dominio (dAb); Holt et al. (2003) *Trends Biotechnol.* 21:484); moléculas de anticuerpo monocatenario; y anticuerpos multiespecíficos formados de fragmentos de anticuerpos. La digestión con papaína de anticuerpos produce dos fragmentos de unión al antígeno idénticos, llamados fragmentos "Fab", cada uno con un único sitio de unión al

antígeno, y un fragmento "Fc" residual, una designación que refleja la capacidad para cristalizar fácilmente. El tratamiento con pepsina da un fragmento  $F(ab')_2$  que tiene dos sitios de combinación del antígeno y es todavía capaz de reticular el antígeno.

5 "Fv" es el fragmento de anticuerpo mínimo que contiene un sitio completo de reconocimiento y unión al antígeno. Esta región consiste en un dímero de un dominio variable de una cadena pesada y una ligera en estrecha asociación no covalente. Es en esta configuración que las tres CDR de cada dominio variable interactúan para definir un sitio de unión al antígeno sobre la superficie del dímero  $V_H-V_L$ . Conjuntamente, las seis CDR confieren especificidad de unión del antígeno al anticuerpo. Sin embargo, incluso un único dominio variable (o la mitad de un Fv que comprende solo tres CDR específicas para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unir el antígeno, aunque a una menor afinidad que todo el sitio de unión.

10 El fragmento "Fab" también contiene el dominio constante de la cadena ligera y el primer dominio constante ( $CH_1$ ) de la cadena pesada. Los fragmentos Fab se diferencian de los fragmentos Fab' mediante la adición de nuevos restos en el extremo carboxilo del dominio  $CH_1$  de cadena pesada que incluyen una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo. Fab'-SH es la designación en el presente documento para Fab' en el que el (los) resto(s) de cisteína de los dominios constantes llevan un grupo tiol libre. Los fragmentos de anticuerpos  $F(ab')_2$  se produjeron originalmente como pares de fragmentos Fab' que tienen cisteínas bisagra entre ellos. También se conocen otros acoplamientos químicos de fragmentos de anticuerpos.

15 Las "cadenas ligeras" de anticuerpos (inmunoglobulinas) de cualquier especie de vertebrado se pueden asignar a uno de dos tipos claramente distintos, denominados kappa y lambda, basándose en las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, las inmunoglobulinas se pueden asignar a diferentes clases. Existen cinco clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varias de estas clases se pueden dividir además en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA e IgA2. Las subclases se pueden dividir además en tipos, por ejemplo, IgG2a e IgG2b.

20 Fragmentos de anticuerpos "Fv monocatenario" o "sFv" o "scFv" comprenden los dominios  $V_H$  y  $V_L$  del anticuerpo, en donde estos dominios están presentes en una única cadena de polipéptidos. En algunas realizaciones, el polipéptido Fv comprende además un conector polipeptídico entre los dominios  $V_H$  y  $V_L$ , que permite que sFv forme la estructura deseada para unión al antígeno. Para una revisión de sFv, véase Pluckthun en *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, pp. 269-315 (1994).

25 El término "diacuerpos" se refiere a pequeños fragmentos de anticuerpos con dos sitios de unión al antígeno, fragmentos que comprenden un dominio variable de la cadena pesada ( $V_H$ ) conectado a un dominio variable de la cadena ligera ( $V_L$ ) en la misma cadena de polipéptidos ( $V_H-V_L$ ). Usando un conector que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena, los dominios son forzados a emparejarse con los dominios complementarios de otra cadena y crean dos sitios de unión al antígeno. Los diacuerpos se describen más completamente en, por ejemplo, los documentos de patente EP 404,097; WO 93/11161; y Hollinger et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448.

30 Como se usa en el presente documento, el término "afinidad" se refiere a la constante de equilibrio para la unión reversible de dos agentes (por ejemplo, un anticuerpo y un antígeno) y se expresa como una constante de disociación ( $K_D$ ). La afinidad puede ser al menos 1 vez mayor, al menos 2 veces mayor, al menos 3 veces mayor, al menos 4 veces mayor, al menos 5 veces mayor, al menos 6 veces mayor, al menos 7 veces mayor, al menos 8 veces mayor, al menos 9 veces mayor, al menos 10 veces mayor, al menos 20 veces mayor, al menos 30 veces mayor, al menos 40 veces mayor, al menos 50 veces mayor, al menos 60 veces mayor, al menos 70 veces mayor, al menos 80 veces mayor, al menos 90 veces mayor, al menos 100 veces mayor, o al menos 1.000 veces mayor, o más, que la afinidad de un anticuerpo por secuencias de aminoácidos no relacionadas. La afinidad de un anticuerpo por una proteína diana puede ser, por ejemplo, desde aproximadamente 100 nanomolar (nM) hasta aproximadamente 0,1 nM, desde aproximadamente 100 nM hasta aproximadamente 1 picomolar (pM), o desde aproximadamente 100 nM hasta aproximadamente 1 femtomolar (fM) o más. Como se usa en el presente documento, el término "avidez" se refiere a la resistencia de un complejo de dos o más agentes a la disociación después de la dilución. Los términos "inmunorreactivo" y "se une preferentemente" se usan indistintamente en el presente documento con respecto a anticuerpos y/o fragmentos de unión al antígeno.

35 El término "unión" se refiere a una asociación directa entre dos moléculas, debido a, por ejemplo, interacciones covalentes, electrostáticas, hidrófobas e iónicas y/o de enlaces de hidrógeno, que incluyen interacciones tales como puentes salinos y puentes de agua. Un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se une específicamente a un epítope dentro de una proteína del complemento C1s. "Unión específica" se refiere a la unión con una afinidad de al menos aproximadamente  $10^{-7}$  M o mayor, por ejemplo,  $5 \times 10^{-7}$  M,  $10^{-8}$  M,  $5 \times 10^{-8}$  M y mayor. "Unión no específica" se refiere a la unión con una afinidad inferior a aproximadamente  $10^{-7}$  M, por ejemplo, unión con una afinidad de  $10^{-6}$  M,  $10^{-5}$  M,  $10^{-4}$  M, etc.

Como se usa en el presente documento, el término "CDR" o "región determinante de la complementariedad" pretende significar los sitios de combinación de antígenos no contiguos encontrados dentro de la región variable de tanto

polipéptidos de la cadena pesada como ligera. Se han descrito CDR por Kabat et al., J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (1991) (también denominado en el presente documento Kabat 1991); por Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) (también denominado en el presente documento Chothia 1987); y MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), donde las definiciones incluyen solapamientos o subconjuntos de restos de aminoácidos cuando se comparan entre sí. Sin embargo, la aplicación de cualquier definición para referirse a una CDR de un anticuerpo o anticuerpos injertados o variantes de los mismos pretende estar dentro del alcance del término como se define y usa en el presente documento. Los restos de aminoácidos, que engloban las CDR, como se definen por cada una de las referencias anteriormente citadas, se exponen a continuación en la Tabla 1 como una comparación. Las CDR representadas en las FIG. 1-8 se definieron según Kabat 1991.

Tabla 1: Definiciones de CDR

	Kabat <sup>1</sup>	Chothia <sup>2</sup>	MacCallum <sup>3</sup>
V <sub>H</sub> CDR-1	31-35	26-32	30-35
V <sub>H</sub> CDR-2	50-65	53-55	47-58
V <sub>H</sub> CDR-3	95-102	96-101	93-101
V <sub>L</sub> CDR-1	24-34	26-32	30-36
V <sub>L</sub> CDR-2	50-56	50-52	46-55
V <sub>L</sub> CDR-3	89-97	91-96	89-96
<sup>1</sup> Numeración de restos que sigue la nomenclatura de Kabat et al., arriba <sup>2</sup> Numeración de restos que sigue la nomenclatura de Chothia et al., arriba <sup>3</sup> Numeración de restos que sigue la nomenclatura de MacCallum et al., arriba			

Como se usa en el presente documento, los términos "CDR-L1", "CDR-L2" y "CDR-L3" se refieren, respectivamente, a la primera, segunda y tercera CDR en una región variable de la cadena ligera. Como se usa en el presente documento, los términos "CDR-H1", "CDR-H2" y "CDR-H3" se refieren, respectivamente, a la primera, segunda y tercera CDR en una región variable de la cadena pesada. Como se usa en el presente documento, los términos "CDR-1", "CDR-2" y "CDR-3" se refieren, respectivamente, a la primera, segunda y tercera CDR de la región variable de cualquier cadena.

Como se usa en el presente documento, el término "región estructural" ("FR"), cuando se usa en referencia a una región variable del anticuerpo, pretende significar todos los restos de aminoácidos fuera de las regiones CDR dentro de la región variable de un anticuerpo. Una región estructural de la región variable es, en general, una secuencia de aminoácidos discontinua de entre aproximadamente 100-120 aminoácidos de longitud, pero solo se pretende que haga referencia a los aminoácidos fuera de las CDR. Como se usa en el presente documento, el término "región estructural" pretende significar cada dominio de la región estructural que se separa por las CDR. Una región variable de la cadena ligera (región VL) puede tener cuatro regiones estructurales: FR1, FR2, FR3 y FR4. Similarmente, una región variable de la cadena pesada (VH) puede tener cuatro regiones estructurales: FR1, FR2, FR3 y FR4.

Un anticuerpo "aislado" es uno que se ha identificado y separado y/o recuperado de un componente de su entorno natural. Los componentes contaminantes de su entorno natural son materiales que interferirían con usos de diagnóstico o terapéuticos para el anticuerpo, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteináceos o no proteináceos. En algunas realizaciones, el anticuerpo se purificará (1) hasta más del 90 %, más del 95 % o más del 98 %, en peso de anticuerpo como se ha determinado por el método de Lowry, por ejemplo, más del 99 % en peso, (2) hasta un grado suficiente para obtener al menos 15 restos de secuencia de aminoácidos aminoterminal o interna por uso de un secuenciador de taza giratoria, o (3) hasta homogeneidad por electroforesis en gel de dodecilsulfato de sodio-poliacrilamida (SDS-PAGE) en condiciones reductoras o no reductoras usando azul de Coomassie o tinción con plata. El anticuerpo aislado incluye el anticuerpo *in situ* dentro de células recombinantes puesto que al menos un componente del entorno natural del anticuerpo no estará presente. En algunos casos, el anticuerpo aislado se preparará por al menos una etapa de purificación.

Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína", usados indistintamente en el presente documento, se refieren a una forma polimérica de aminoácidos de cualquier longitud, que puede incluir aminoácidos genéticamente codificados y

no genéticamente codificados, aminoácidos químicamente o bioquímicamente modificados y derivatizados, y polipéptidos que tienen esqueletos modificados con péptido. El término incluye proteínas de fusión, que incluyen, pero no se limitan a, proteínas de fusión con una secuencia de aminoácidos heteróloga, fusiones con secuencias conductoras heterólogas y homólogas, con o sin restos aminoterminales de metionina; proteínas inmunológicamente marcadas; y similares.

Como se usa en el presente documento, los términos "tratamiento", "que trata", "tratar" y similares se refieren a obtener un efecto farmacológico y/o fisiológico deseado. El efecto puede ser profiláctico en términos de prevenir completamente o parcialmente una enfermedad o síntoma de la misma y/o puede ser terapéutico en términos de una cura parcial o completa para una enfermedad y/o efecto adverso atribuible a la enfermedad. "Tratamiento", como se usa en el presente documento, cubre cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero, particularmente en un humano, e incluye: (a) prevenir que ocurra la enfermedad en un sujeto que puede tener predisposición a la enfermedad, pero todavía no se le ha diagnosticado que la tenga; (b) inhibir la enfermedad, es decir, detener su desarrollo; y (c) aliviar la enfermedad, es decir, causar la regresión de la enfermedad.

Los términos "individuo", "sujeto", "hospedador" y "paciente", usados indistintamente en el presente documento, se refieren a un mamífero, que incluye, pero no se limita a, murinos (ratas, ratones), primates no humanos, seres humanos, caninos, felinos, ungulados (por ejemplo, equinos, bovinos, ovinos, porcinos, caprinos), etc. También están englobados por estos términos cualquier animal que tenga un sistema del complemento, tal como mamíferos, peces y algunos invertebrados. Como tales, estos términos incluyen mamíferos, peces y animales de compañía invertebrados que contienen el sistema del complemento, animales agrícolas, animales de trabajo, animales de zoológico y animales de laboratorio.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de un anticuerpo anti-complemento C1s que, cuando se administra a un mamífero u otro sujeto para tratar una enfermedad, es suficiente para efectuar dicho tratamiento para la enfermedad. La "cantidad terapéuticamente eficaz" variará dependiendo del anticuerpo anti-complemento C1s, la enfermedad y su intensidad y la edad, peso, etc., del sujeto que se va a tratar.

Una "muestra biológica" engloba una variedad de tipos de muestra obtenidos de un individuo y se puede usar en un ensayo de diagnóstico o de monitorización. La definición engloba sangre y otras muestras líquidas de origen biológico, muestras de tejido sólido, tales como un espécimen de biopsia o cultivos de tejido o células derivadas de los mismos, y la descendencia de los mismos. La definición también incluye muestras que han sido manipuladas de algún modo después de su obtención, tales como mediante tratamiento con reactivos, solubilización o enriquecimiento de ciertos componentes, tales como polinucleótidos. El término "muestra biológica" engloba una muestra clínica, y también incluye células en cultivo, sobrenadantes de células, lisados celulares, suero, plasma, líquido biológico y muestras de tejido. El término "muestra biológica" incluye orina, saliva, líquido cefalorraquídeo, líquido intersticial, líquido ocular, líquido sinovial, fracciones de sangre, tales como plasma y suero, y similares. El término "muestra biológica" también incluye muestras de tejido sólido, muestras de cultivo de tejido y muestras celulares.

Antes de describir más la presente invención, se debe entender que la presente invención no se limita a realizaciones particulares descritas, puesto que el alcance de la invención se expone en las reivindicaciones adjuntas. También se debe entender que la terminología usada en el presente documento es con el fin de describir realizaciones particulares solo, y no pretenden ser limitantes, puesto que el alcance de la presente invención estará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

Donde se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, al décimo de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto dicte claramente de otro modo, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor establecido o intermedio en ese intervalo establecido, está englobado dentro de la invención. Los límites superiores e inferiores de estos intervalos más pequeños se pueden incluir independientemente en los intervalos más pequeños, y también están englobados dentro de la invención, sujeto a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo establecido. Donde el intervalo establecido incluya uno o ambos de los límites, los intervalos que excluyen cualquiera o ambos de los límites incluidos también están incluidos en el intervalo.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente es entendido por un experto habitual en la técnica a la que pertenece la presente invención. Aunque también se puede usar cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento en la práctica o prueba de la presente invención, ahora se describen los métodos y materiales preferidos.

Se debe observar que, como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una", "el" y "la" incluyen referentes plurales, a menos que el contexto dicte claramente de otro modo. Por lo tanto, por ejemplo, referencia a "un anticuerpo anti-C1s humanizado" incluye una pluralidad de dichos anticuerpos y referencia a "la región estructural" incluye referencia a una o más regiones estructurales y equivalentes de las mismas conocidas por los expertos en la técnica, etc. Se indica además que las reivindicaciones pueden ser redactadas para excluir cualquier elemento opcional. Como tal, esta afirmación pretende servir de base antecedente para el uso de dicha terminología exclusiva como "únicamente," "solo" y similares a propósito de la relación de los elementos de reivindicación, o uso de una limitación "negativa".

Se aprecia que ciertas características de la invención, que se describen, por claridad, en el contexto de realizaciones separadas, también se pueden proporcionar en combinación en una única realización. En cambio, diversas características de la invención, que se describen, por brevedad, en el contexto de una única realización, también se pueden proporcionar por separado o en cualquier subcombinación adecuada. Todas las combinaciones de las realizaciones referentes a la invención están englobadas específicamente por la presente invención y se desvelan en el presente documento como si todas y cada una de dichas subcombinaciones fueran desveladas individual y explícitamente. Además, todas las subcombinaciones de las diversas realizaciones y elementos de las mismas también están englobadas específicamente por la presente invención y se desvelan en el presente documento como si todas y cada una de dichas subcombinaciones fueran desveladas individual y explícitamente en el presente documento.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención proporciona un anticuerpo humanizado que se une a la proteína del complemento C1s (es decir, un anticuerpo anti-complemento C1s humanizado, también denominado en el presente documento un "anticuerpo anti-C1s humanizado", un "anticuerpo C1s humanizado" y un "anticuerpo objeto"), en donde el anticuerpo comprende una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 14 y una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 22. La presente invención también proporciona una composición que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención. La presente invención proporciona un anticuerpo humanizado de la invención para el uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, que implica administrar un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención.

#### ANTICUERPOS ANTI-COMPLEMENTO C1s

La presente invención proporciona el anticuerpo anti-complemento C1s humanizado de la invención y composiciones farmacéuticas que comprenden dichos anticuerpos. El complemento C1s es una diana atractiva, ya que está aguas arriba en la cascada del complemento y tiene un estrecho intervalo de especificidad por el sustrato. En algunos casos es de interés un anticuerpo que se une específicamente a la forma activada de C1s, por ejemplo, donde el anticuerpo no se une sustancialmente a la forma inactiva de C1s.

Un anticuerpo anti-C1s de la presente invención está humanizado.

En algunos casos, un anticuerpo anti-C1s de la presente invención inhibe la escisión mediada por C1s del componente del complemento C4, por ejemplo, inhibiendo la actividad enzimática del dominio de serina-proteasa de C1s. En algunos casos, un anticuerpo anti-C1s de la presente invención inhibe la escisión mediada por C1s del componente del complemento C2. En algunos casos, un anticuerpo anti-C1s de la presente invención inhibe la escisión mediada por C1s de C4 y C2.

La humanización de una región estructural (regiones estructurales) reduce el riesgo de que el anticuerpo provoque una respuesta de anticuerpos humanos anti-murinos (HAMA) en seres humanos. Los métodos de determinación de la respuesta inmunitaria reconocidos en la técnica se pueden realizar para monitorizar una respuesta de HAMA en un paciente particular o durante ensayos clínicos. A los pacientes administrados con anticuerpos humanizados se les puede hacer una evaluación de la inmunogenicidad al principio y a lo largo de la administración de la terapia. La respuesta de HAMA se mide, por ejemplo, detectando anticuerpos contra el reactivo terapéutico humanizado, en muestras de suero del paciente usando un método conocido por un experto en la técnica, que incluye la tecnología de resonancia de plasmones superficiales (BIACORE) y/o el análisis de enzimoanálisis de adsorción en fase sólida (ELISA). En muchos casos, un anticuerpo objeto anti-C1s humanizado no provoca sustancialmente una respuesta de HAMA en un sujeto humano.

Se seleccionan ciertos aminoácidos de los restos de la región estructural de la región variable humana para la sustitución basándose en sus posibles influencias sobre la conformación de CDR y/o la unión al antígeno. La yuxtaposición no natural de regiones CDR murinas con región estructural variable humana puede dar como resultado limitaciones conformacionales no naturales que, a menos que sean corregidas por sustitución de ciertos restos de aminoácidos, conducen a la pérdida de afinidad de unión.

La selección de restos de aminoácidos para la sustitución se puede determinar, en parte, por modelado informático. Se conocen en la técnica hardware y software informático para producir imágenes tridimensionales de moléculas de inmunoglobulina. En general, se producen modelos moleculares a partir de estructuras resueltas para cadenas de inmunoglobulina o dominios de las mismas. Las cadenas a modelar se comparan para similitud de secuencias de aminoácidos con cadenas o dominios de estructuras tridimensionales resueltas, y las cadenas o dominios que muestran la mayor similitud de secuencias se seleccionan como puntos de partida para la construcción del modelo molecular. Se seleccionan cadenas o dominios que comparten al menos 50 % de identidad de secuencia para el modelado, por ejemplo, para el modelado se seleccionan las que comparten al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 % de identidad de secuencia o más. Las estructuras de partida resueltas se modifican para permitir diferencias entre los aminoácidos reales en las cadenas de inmunoglobulina o dominios que se modelan, y aquellos en la estructura de partida. Las estructuras modificadas se ensamblan entonces en una inmunoglobulina compuesta. Finalmente, el modelo se refina por minimización de energía y verificando que todos los átomos estén dentro de

distancias apropiadas entre sí y que las longitudes y ángulos de enlace estén dentro de los límites químicamente aceptables.

Las CDR y regiones estructurales son como se definen por Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987 y 1991). Una definición estructural alternativa ha sido propuesta por Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901 (1987); Nature 342:878 (1989); y J. Mol. Biol. 186:651 (1989) (denominados conjuntamente "Chothia"). Cuando los restos de la región estructural, como se define por Kabat, arriba, constituyen restos de bucle estructurales como se define por Chothia, arriba, los aminoácidos presentes en el anticuerpo de ratón se pueden seleccionar para la sustitución en el anticuerpo humanizado. Los restos que son "adyacentes a una región CDR" incluyen restos de aminoácidos en posiciones inmediatamente adyacentes a una o más de las CDR en la secuencia primaria de la cadena de inmunoglobulina humanizada, por ejemplo, en posiciones inmediatamente adyacentes a una CDR como se define por Kabat, o una CDR como se define por Chothia (véase, por ejemplo, Chothia y Lesk JMB 196:901 (1987)). Estos aminoácidos son particularmente propensos a interactuar con los aminoácidos en las CDR y, si se eligen del aceptor, para distorsionar las CDR donantes y reducir la afinidad. Además, los aminoácidos adyacentes puede interactuar directamente con el antígeno (Amit et al., Science, 233:747 (1986)) y se puede desear seleccionar estos aminoácidos del donante para mantener todos los contactos de antígeno que proporcionan afinidad en el anticuerpo original.

El anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención incluye CDR VL presentes en la siguiente secuencia de aminoácidos: DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYMNWYQQKTGQPPKILYDASNLESGIPA RFGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAAIYYCQSNEDPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:7) y el anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención incluye CDR VH presentes en la siguiente secuencia de aminoácidos:

EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNISKDDYIHVVKQRPEQGLEWIGRIDPADGHTKYAPKF  
QVKATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDYAVYYCARYGYGREVFDYWGQGTTLVSS (SEQ ID  
NO:8).

CDR1 VL (CDR-L1): SEQ ID NO:1: KASQSVDYDGDSYMN

CDR2 VL (CDR-L2): SEQ ID NO:2: DASNLES

CDR3 VL (CDR-L3): SEQ ID NO:3: QQSNEDPWT

CDR1 VH (CDR-H1): SEQ ID NO:4: DDYIH

CDR2 VH (CDR-H2): SEQ ID NO:5: RIDPADGHTKYAPKFQV

CDR3 VH (CDR-H3) : SEQ ID NO:6: YGYGREVFDY

El anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención comprende una región variable de la cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos de CDR SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 y SEQ ID NO:3 (CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3, respectivamente).

El anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención comprende una región variable de la cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de CDR SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5 y SEQ ID NO:6 (CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3, respectivamente).

El anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención comprende una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos representada en la FIG. 3, y expuesta en SEQ ID NO:14 y

una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos representada en la FIG. 7, y expuesta en SEQ ID NO:22.

El anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención comprende: a) una secuencia de aminoácidos de variante de VH 3 representada en FIG. 3 y como se expone en SEQ ID NO: 14; y b) una secuencia de aminoácidos de variante de VL 2 representada en FIG. 7 y expuesta en SEQ ID NO:22.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se une al complemento C1s.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se une a la proteína del complemento C1s que tiene la secuencia de aminoácidos representada en FIG. 13 (SEQ ID NO:9). La secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:9 representa la proteína del complemento C1s de *Homo sapiens*, que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en FIG. 13.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se une a la proteína del complemento C1s con una constante de disociación ( $K_D$ ) no superior a 2,5 nM. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se une a la proteína del complemento C1s con una  $K_D$  no superior a 2 nM. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se une a la proteína del complemento C1s con una  $K_D$  no superior a 1 nM. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de

la presente invención se une a la proteína del complemento C1s con una  $K_D$  no superior a 0,9 nM, no superior a 0,8 nM, no superior a 0,7 nM, no superior a 0,6 nM.

Los métodos de medición de la unión de un anticuerpo a la proteína C1s se pueden determinar por un experto en la técnica.

- 5 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se une a la proteína humana del complemento C1s con una constante de disociación ( $K_D$ ) no superior a 2,5 nM. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se une a la proteína humana del complemento C1s con una  $K_D$  no superior a 2 nM. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se une a la proteína humana del complemento C1s con una  $K_D$  no superior a 1 nM. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se une a la proteína humana del complemento C1s con una  $K_D$  no superior a 0,9 nM, no superior a 0,8 nM, no superior a 0,7 nM, no superior a 0,6 nM.

Los métodos de medición de la unión de un anticuerpo a la proteína C1s humana se pueden determinar por un experto en la técnica. En algunas realizaciones, un ensayo de unión como se describe en los ejemplos se usa para determinar  $K_D$  entre un anticuerpo y una proteína C1s humana.

- 15 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención inhibe la vía clásica del complemento con una concentración inhibitoria al 50 % ( $CI_{50}$ ) de  $10^{-8}$  M o menos,  $5 \times 10^{-9}$  M.

#### ÁCIDOS NUCLEICOS, VECTORES DE EXPRESIÓN Y CÉLULAS HOSPEDADORAS

- 20 Se desvela un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación. En algunos casos, un ácido nucleico de la presente divulgación comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la región VH de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación. En algunos casos, un ácido nucleico de la presente divulgación comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la región VL de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación. En algunos casos, un ácido nucleico de la presente divulgación comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la región VH y la región VL de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación.

- 25 Una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación puede estar operativamente unido a uno o más elementos reguladores, tales como un promotor y potenciador, que permiten la expresión de la secuencia de nucleótidos en las células diana previstas (por ejemplo, una célula que es genéticamente modificada para sintetizar el anticuerpo codificado). Por lo tanto, en algunos casos, la presente divulgación proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación, donde la secuencia de nucleótidos está operativamente unida a uno o más elementos reguladores, por ejemplo, un promotor y/o un potenciador.

- 30 Se conocen en la técnica elementos promotores y potenciadores adecuados. Promotores adecuados para el uso en las células hospedadoras procariontas incluyen, pero no se limitan a, un promotor de la ARN polimerasa T7 de bacteriófago; un promotor T3; un promotor T5; un promotor P lambda; un promotor trp; un promotor del operón lac; un promotor híbrido, por ejemplo, un promotor híbrido lac/tac, promotor híbrido tac/trc, un promotor trp/lac, un promotor T7/lac; un promotor trc; un promotor tac, y similares; un promotor gpt; un promotor araBAD; promotores regulados *in vivo*, tales como un promotor *ssaG* o un promotor relacionado (véase, por ejemplo, la publicación de patente de EE. UU. N.º 20040131637), un promotor *pagC* (Pulkkinen y Miller, J. Bacteriol., 1991: 173(1): 86-93; Alpuche-Aranda et al., PNAS, 1992; 89(21): 10079-83), un promotor *nirB* (Harborne et al. (1992) Mol. Micro. 6:2805-2813) y similares (véase, por ejemplo, Dunstan et al. (1999) Infect. Immun. 67:5133-5141; McKelvie et al. (2004) Vaccine 22:3243-3255; y Chatfield et al. (1992) Biotechnol. 10:888-892); un promotor sigma70, por ejemplo, un promotor sigma70 consenso (véanse, por ejemplo, los N.º de acceso de GenBank AX798980, AX798961 y AX798183); un promotor de fase estacionaria, por ejemplo, un promotor dps, un promotor spv y similares; un promotor derivado de la isla de patogenicidad SPI-2 (véase, por ejemplo, el documento de patente WO96/17951); un promotor actA (véase, por ejemplo, Shetron-Rama et al. (2002) Infect. Immun. 70:1087-1096); un promotor rpsM (véase, por ejemplo, Valdivia y Falkow (1996). Mol. Microbiol. 22:367); un promotor tet (véase, por ejemplo, Hillen, W. y Wissmann, A. (1989) en Saenger, W. y Heinemann, U. (eds), Topics in Molecular and Structural Biology, Protein-Nucleic Acid Interaction. Macmillan, London, UK, Vol. 10, pp. 143-162); un promotor SP6 (véase, por ejemplo, Melton et al. (1984) Nucl. Acids Res. 12:7035); y similares. Promotores fuertes adecuados para el uso en procariontas, tales como *Escherichia coli*, incluyen, pero no se limitan a, Trc, Tac, T5, T7 y P<sub>Lambda</sub>. Los ejemplos no limitantes de operadores para el uso en células hospedadoras bacterianas incluyen un promotor operador de lactosa (la proteína represora LacI cambia la conformación cuando se pone en contacto con lactosa, previniendo así que la proteína represora LacI se una al operador), un promotor operador de triptófano (cuando se compleja con triptófano, la proteína represora TrpR tiene una conformación que se une al operador; en ausencia de triptófano, la proteína represora TrpR tiene una conformación que no se une al operador) y un promotor operador tac (véase, por ejemplo, deBoer et al. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80:21-25).

En algunas realizaciones, por ejemplo, para la expresión en una célula de levadura, un promotor adecuado es un promotor constitutivo, tal como un promotor ADH1, un promotor PGK1, un promotor ENO, un promotor PYK1 y

similares; o un promotor regulable, tal como un promotor GAL1, un promotor GAL 10, un promotor ADH2, un promotor PHO5, un promotor CUP1, un promotor GAL7, un promotor MET25, un promotor MET3, un promotor CYC1, un promotor HIS3, un promotor ADH1, un promotor PGK, un promotor GAPDH, un promotor ADC1, un promotor TRP1, un promotor URA3, un promotor LEU2, un promotor ENO, un promotor TP1 y AOX1 (por ejemplo, para el uso en *Pichia*).

Para la expresión en una célula eucariota, promotores adecuados incluyen, pero no se limitan a, elementos promotores y potenciadores del gen de inmunoglobulina de cadena ligera y/o pesada; promotor temprano inmediato del citomegalovirus; promotor de timidina cinasa del virus del herpes simple; promotores SV40 tempranos y tardíos; promotor presente en repeticiones terminales largas de un retrovirus; promotor de la metalotioneína-I de ratón; y diversos promotores específicos de tejido conocidos en la técnica.

La selección del vector y promotor apropiado está perfectamente dentro del nivel del experto habitual en la técnica.

Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación puede estar presente en un vector de expresión y/o un vector de clonación. La presente divulgación proporciona un vector recombinante que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación, donde el vector recombinante es un vector de clonación. La presente divulgación proporciona un vector recombinante que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación, donde el vector recombinante es un vector de expresión, por ejemplo, donde la secuencia de nucleótidos está operativamente unida a secuencia(s) reguladora(s) apropiada(s) en el vector de expresión para garantizar la expresión del anticuerpo codificado. Donde un anticuerpo objeto comprenda dos polipéptidos separados, los ácidos nucleicos que codifican los dos polipéptidos se pueden clonar en el mismo vector o en vectores separados para formar uno o más vectores recombinantes. Un vector recombinante puede incluir un marcador de selección, un origen de replicación y otras características que proporcionan la replicación y/o mantenimiento del vector recombinante (por ejemplo, vector de expresión recombinante).

Los expertos en la técnica conocen grandes números de vectores y promotores adecuados; muchos están comercialmente disponibles para generar un vector recombinante objeto. Los siguientes vectores se proporcionan a modo de ejemplo. Bacterianos: pBs, phagescript, PsiX174, pBluescript SK, pBs KS, pNH8a, pNH16a, pNH18a, pNH46a (Stratagene, La Jolla, Calif., USA); pTrc99A, pKK223-3, pKK233-3, pDR540 y pRIT5 (Pharmacia, Uppsala, Suecia). Eucariotas: pWLneo, pSV2cat, pOG44, PXR1, pSG (Stratagene) pSVK3, pBPV, pMSG y pSVL (Pharmacia).

Los vectores de expresión tienen, en general, sitios de restricción convenientes situados cerca de la secuencia promotora para proporcionar la inserción de secuencias del ácido nucleico que codifican proteínas heterólogas. Un marcador de selección operativo en el hospedador de expresión puede estar presente. Vectores de expresión adecuados incluyen, pero no se limitan a, vectores víricos. Los ejemplos de vectores víricos incluyen, pero no se limitan a, vectores víricos basados en: virus de la variolovacuna; virus de la poliomielitis; adenovirus (véase, por ejemplo, Li et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35:2543-2549, 1994; Borrás et al., *Gene Ther* 6:515-524, 1999; Li y Davidson, *PNAS* 92:7700-7704, 1995; Sakamoto et al., *Hum Gene Ther* 5:1088-1097, 1999; documentos de patente WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 y WO 95/00655); virus adenoasociados (véanse, por ejemplo, Ali et al., *Hum Gene Ther* 9:81-86, 1998; Flannery et al., *PNAS* 94:6916-6921, 1997; Bennett et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38:2857-2863, 1997; Jomary et al., *Gene Ther* 4:683-690, 1997; Rolling et al., *Hum Gene Ther* 10:641-648, 1999; Ali et al., *Hum Mol Genet* 5:591-594, 1996; Srivastava en el documento de patente WO 93/09239, Samulski et al., *J. Vir.* (1989) 63:3822-3828; Mendelson et al., *Virology* (1988) 166:154-165; y Flotte et al., *PNAS* (1993) 90:10613-10617); SV40; virus del herpes simple; un vector retrovírico (por ejemplo, virus de la leucemia murina, virus de la necrosis del bazo y vectores derivados de retrovirus, tales como virus del sarcoma de Rous, virus del sarcoma de Harvey, virus de la leucosis aviar, virus de la inmunodeficiencia humana (véanse, por ejemplo, Miyoshi et al., *PNAS* 94:10319-23, 1997; Takahashi et al., *J Virol* 73:7812-7816, 1999), virus del sarcoma mieloproliferativo y virus del tumor mamario); y similares.

#### Células hospedadoras

Se desvelan células hospedadoras aisladas genéticamente modificadas (por ejemplo, células *in vitro*) que están genéticamente modificadas con un ácido nucleico del individuo. En algunas realizaciones, una célula hospedadora aislada genéticamente modificada del individuo puede producir un anticuerpo objeto. Dicha célula se denomina una "célula recombinante" o una "célula hospedadora genéticamente modificada". Una célula hospedadora genéticamente modificada de la presente divulgación comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación.

Las células hospedadoras adecuadas incluyen células hospedadoras eucariotas, tales como una célula de mamífero, una célula hospedadora de insecto, una célula de levadura; y células procariotas, tales como una célula bacteriana. La introducción de un ácido nucleico del individuo en la célula hospedadora se puede efectuar, por ejemplo, por precipitación con fosfato de calcio, transfección mediada por DEAE-dextrano, transfección mediada por liposomas, electroporación, u otro método conocido.

Las células de mamífero adecuadas incluyen células primarias y estirpes celulares inmortalizadas. Las estirpes celulares de mamífero adecuadas incluyen estirpes celulares humanas, estirpes celulares de primate no humano, estirpes celulares de roedor (por ejemplo, ratón, rata) y similares. Las estirpes celulares de mamífero adecuadas incluyen, pero no se limitan a, células HeLa (por ejemplo, Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC) N.º CCL-2), células CHO (por ejemplo, ATCC N.º CRL9618, CCL61, CRL9096), células 293 (por ejemplo, ATCC N.º CRL-1573), células Vero, células NIH 3T3 (por ejemplo, ATCC N.º CRL-1658), células Huh-7, células BHK (por ejemplo, ATCC N.º CCL10), células PC12 (ATCC N.º CRL1721), células COS, células COS-7 (ATCC N.º CRL1651), células RAT1, células ratón L (ATCC N.º CCL1.3), células de riñón embrionario humano (HEK) (ATCC N.º CRL1573), células HLHepG2 y similares. En algunos casos, las células son células HEK. En algunos casos, las células son células CHO, por ejemplo, células CHO-K1 (ATCC N.º CCL-61), células CHO-M, células CHO-DG44 (ATCC N.º PTA-3356) y similares. En algunas realizaciones, la célula hospedadora es una célula COS. En algunas realizaciones, la célula hospedadora es una célula 293. En algunas realizaciones, la célula hospedadora es una célula CHO.

Células de levadura adecuadas incluyen, pero no se limitan a, *Pichia pastoris*, *Pichia finlandica*, *Pichia trehalophila*, *Pichia koclamae*, *Pichia membranaefaciens*, *Pichia opuntiae*, *Pichia thermotolerans*, *Pichia salictaria*, *Pichia guercuum*, *Pichia pijperi*, *Pichia stiptis*, *Pichia methanolica*, *Pichia* sp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces* sp., *Hansenula polymorpha*, *Kluyveromyces* sp., *Kluyveromyces lactis*, *Candida albicans*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei*, *Chryso sporium lucknowense*, *Fusarium* sp., *Fusarium gramineum*, *Fusarium venenatum*, *Neurospora crassa*, *Chlamydomonas reinhardtii* y similares. En algunas realizaciones, la célula hospedadora es *Saccharomyces*. En algunas realizaciones, la célula hospedadora es *Pichia*.

Células procariotas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de una variedad de cepas de laboratorio de *Escherichia coli*, *Bacillus* (por ejemplo, *B. subtilis*), *Lactobacillus* sp., y similares. Véase, por ejemplo, Carrier et al. (1992) J. Immunol. 148:1176-1181; patente de EE. UU. N.º 6.447.784; y Sizemore et al. (1995) Science 270:299-302. Normalmente, la cepa de laboratorio es una que es no patógena. En algunas realizaciones, la célula hospedadora es *Escherichia coli*. En algunas realizaciones, la célula hospedadora es *Bacillus subtilis*.

## 25 COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

La presente invención proporciona composiciones, que incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención. En general, una composición farmacéutica, también denominada en el presente documento una formulación, comprende una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención. Una "cantidad eficaz" significa una dosis suficiente para producir un resultado deseado, por ejemplo, reducción en un síntoma adverso asociado a una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, mejora de un síntoma de una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, ralentizamiento de la progresión de una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, etc. En general, el resultado deseado es al menos una reducción en un síntoma de una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, en comparación con un control. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se formula y/o modifica para permitir que el anticuerpo atraviese la barrera hematoencefálica. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se administra de tal manera que evite la barrera hematoencefálica. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se formula con un agente que facilita el paso de la barrera hematoencefálica. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención está fusionado, directamente o a través de un conector, con un compuesto que promueve el paso de la barrera hematoencefálica.

### Formulaciones

En el uso objeto, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se pueden administrar al hospedador usando cualquier medio conveniente capaz de dar como resultado el efecto terapéutico o efecto de diagnóstico deseado. Por lo tanto, el agente se pueden incorporar en una variedad de formulaciones para administración terapéutica. Más particularmente, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se puede formular en composiciones farmacéuticas por combinación con vehículos farmacéuticamente aceptables, diluyentes farmacéuticamente aceptables, u otros excipientes farmacéuticamente aceptables apropiados, y se puede formular en preparaciones en formas sólida, semisólida, líquida o gaseosa, tales como comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, pomadas, disoluciones, supositorios, inyecciones, inhalantes y aerosoles. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En formas de administración farmacéuticas, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se puede administrar en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables, o también se pueden usar solos o en asociación apropiada, así como en combinación, con otros compuestos farmacéuticamente activos. Los siguientes métodos y excipientes son simplemente a modo de ejemplo y de ninguna forma son limitantes.

Para preparaciones orales, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se puede usar solo o en combinación con aditivos apropiados para preparar comprimidos, polvos, gránulos o cápsulas, por ejemplo, con aditivos convencionales, tales como lactosa, manitol, almidón de maíz o almidón de patata; con aglutinantes, tales como celulosa cristalina, derivados de celulosa, goma arábica, almidón de maíz o gelatinas; con disgregantes, tales

como almidón de maíz, almidón de patata o carboximetilcelulosa de sodio; con lubricantes, tales como talco o estearato de magnesio; y, si se desea, con diluyentes, agentes de tamponamiento, agentes humidificantes, conservantes y aromatizantes.

5 Un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se puede formular en preparaciones para inyección disolviendo, suspendiendo o emulsionando el anticuerpo en un disolvente acuoso o no acuoso, tal como aceites vegetales y otros aceites similares, propilenglicol, glicéridos de alifáticos ácidos sintéticos, ésteres orgánicos inyectables (por ejemplo, oleato de etilo), ésteres de ácidos alifáticos superiores o propilenglicol; y, si se desea, con aditivos convencionales, tales como solubilizantes, agentes isotónicos, agentes de suspensión, emulsionantes, estabilizadores y conservantes. Los vehículos parenterales incluyen disolución de cloruro sódico, dextrosa de Ringer, 10 dextrosa y cloruro sódico, Ringer con lactato, o aceites no volátiles. Los vehículos intravenosos incluyen reforzadores de líquidos y de nutrientes, reforzadores de electrolitos (tales como los basados en dextrosa de Ringer), y similares. Además, la composición farmacéutica de la presente invención puede comprender agentes adicionales, tales como dopamina o fármacos psicofarmacológicos, dependiendo del uso previsto de la composición farmacéutica.

15 Las composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se preparan mezclando un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención que tiene el grado deseado de pureza con vehículos fisiológicamente aceptables opcionales, otros excipientes, estabilizadores, tensioactivos, tampones y/o agentes de tonicidad. Los vehículos aceptables, otros excipientes y/o estabilizadores son no tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico, glutatión, cisteína, metionina y ácido cítrico; 20 conservantes (tales como etanol, alcohol bencílico, fenol, m-cresol, p-cloro-m-cresol, metil o propil parabenos, cloruro de benzalconio, o combinaciones de los mismos); aminoácidos, tales como arginina, glicina, ornitina, lisina, histidina, ácido glutámico, ácido aspártico, isoleucina, leucina, alanina, fenilalanina, tirosina, triptófano, metionina, serina, prolina y combinaciones de los mismos; monosacáridos, disacáridos y otros hidratos de carbono; polipéptidos de bajo peso molecular (inferior a aproximadamente 10 restos); proteínas, tales como gelatina o albúmina de suero; agentes 25 quelantes, tales como EDTA; azúcares, tales como trehalosa, sacarosa, lactosa, glucosa, manosa, maltosa, galactosa, fructosa, sorbosa, rafinosa, glucosamina, N-metilglucosamina, galactosamina y ácido neuramínico; y/o tensioactivos no iónicos, tales como Tween, Brij Pluronic, Triton-X o polietilenglicol (PEG).

30 La composición farmacéutica puede estar en una forma líquida, una forma liofilizada o una forma líquida reconstituida de una forma liofilizada, en donde la preparación liofilizada se va a reconstituir con una disolución estéril antes de la administración. El procedimiento convencional para reconstituir una composición liofilizada es añadir de nuevo un volumen de agua pura (normalmente equivalente al volumen retirado durante la liofilización); sin embargo, se pueden usar disoluciones que comprenden agentes antibacterianos para la producción de composiciones farmacéuticas para administración parenteral; véase también Chen (1992) Drug Dev Ind Pharm 18, 1311-54.

35 Las concentraciones de anticuerpo a modo de ejemplo en una composición farmacéutica objeto pueden variar desde aproximadamente 1 mg/ml hasta aproximadamente 200 mg/ml o desde aproximadamente 50 mg/ml hasta aproximadamente 200 mg/ml, o desde aproximadamente 150 mg/ml hasta aproximadamente 200 mg/ml.

40 Una formulación acuosa de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se puede preparar en una disolución de pH tamponado, por ejemplo, un pH que varía desde aproximadamente 4,0 hasta aproximadamente 7,0, o desde aproximadamente 5,0 hasta aproximadamente 6,0, o alternativamente aproximadamente 5,5. Los ejemplos de tampones que son adecuados para un pH dentro de este intervalo incluyen tampones fosfato, histidina, citrato, succinato, acetato y otros tampones de ácido orgánico. La concentración de tampón puede ser desde aproximadamente 1 mM hasta aproximadamente 100 mM, o desde aproximadamente 5 mM hasta aproximadamente 50 mM, dependiendo, por ejemplo, del tampón y la tonicidad deseada de la formulación.

45 Un agente de tonicidad se puede incluir en la formulación de anticuerpo para modular la tonicidad de la formulación. Los agentes de tonicidad a modo de ejemplo incluyen cloruro sódico, cloruro de potasio, glicerina y cualquier componente del grupo de aminoácidos, azúcares, así como combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la formulación acuosa es isotónica, aunque pueden ser adecuadas disoluciones hipertónicas o hipotónicas. El término "isotónica" indica una disolución que tiene la misma tonicidad que alguna otra disolución con la que se compara, tal como una disolución salina fisiológica o suero. Los agentes de tonicidad se pueden usar en una cantidad de 50 aproximadamente 5 mM a aproximadamente 350 mM, por ejemplo, en una cantidad de 100 mM a 350 nM.

También se puede añadir un tensioactivo a la formulación de anticuerpo para reducir la agregación del anticuerpo formulado y/o minimizar la formación de partículas en la formulación y/o reducir la adsorción. Los tensioactivos a modo de ejemplo incluyen ésteres de ácidos grasos de polioxietilensorbitano (Tween), alquil éteres de polioxietileno (Brij), alquilfenilpolioxietileno éteres (Triton-X), copolímero de polioxietileno-polioxipropileno (poloxámero, Pluronic) y dodecilsulfato de sodio (SDS). Los ejemplos de ésteres de ácidos grasos de polioxietilensorbitano adecuados son polisorbato 20 (comercializado con la marca registrada Tween 20™) y polisorbato 80 (comercializado con la marca registrada Tween 80™). Los ejemplos de copolímeros de polietileno-polipropileno adecuados son los comercializados con los nombres Pluronic® F68 o Poloxamer 188™. Los ejemplos de alquil éteres de polioxietileno adecuados son los comercializados con la marca registrada Brij™. Las concentraciones de tensioactivo a modo de ejemplo pueden variar 60 desde aproximadamente el 0,001 % hasta aproximadamente el 1 % p/v.

También se puede añadir un lioprotector para proteger el principio activo lábil (por ejemplo, una proteína) de condiciones desestabilizantes durante el proceso de liofilización. Por ejemplo, los lioprotectores conocidos incluyen azúcares (incluyendo glucosa y sacarosa); polioles (incluyendo manitol, sorbitol y glicerol); y aminoácidos (incluyendo alanina, glicina y ácido glutámico). Los lioprotectores se pueden incluir en una cantidad de aproximadamente 10 mM a 500 nM.

En algunas realizaciones, una formulación objeto incluye un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, y uno o más de los agentes anteriormente identificados (por ejemplo, un tensioactivo, un tampón, un estabilizador, un agente de tonicidad) y está esencialmente libre de uno o más conservantes, tales como etanol, alcohol bencílico, fenol, m-cresol, p-cloro-m-cresol, metil o propil parabenos, cloruro de benzalconio, y combinaciones de los mismos. En otras realizaciones, un conservante se incluye en la formulación, por ejemplo, a concentraciones que varían desde aproximadamente 0,001 hasta aproximadamente 2 % (p/v).

Por ejemplo, una formulación objeto puede ser un líquido o formulación liofilizada adecuada para administración parenteral, y puede comprender: aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención; aproximadamente 0,001 % a aproximadamente 1 % de al menos un tensioactivo; aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM de un tampón; opcionalmente aproximadamente 10 mM a aproximadamente 500 mM de un estabilizador; y aproximadamente 5 mM a aproximadamente 305 mM de un agente de tonicidad; y tiene un pH de aproximadamente 4,0 a aproximadamente 7,0.

Como otro ejemplo, una formulación parenteral objeto es un líquido o formulación liofilizada que comprende: aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención; 0,04 % de Tween 20 p/v; L-histidina 20 mM; y sacarosa 250 mM; y tiene un pH de 5,5.

Como otro ejemplo, una formulación parenteral objeto comprende una formulación liofilizada que comprende: 1) 15 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,04 % de Tween 20 p/v; L-histidina 20 mM; y sacarosa 250 mM; y tiene un pH de 5,5; o 2) 75 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,04 % de Tween 20 p/v; L-histidina 20 mM; y sacarosa 250 mM; y tiene un pH de 5,5; o 3) 75 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,02 % de Tween 20 p/v; L-histidina 20 mM; y sacarosa 250 mM; y tiene un pH de 5,5; o 4) 75 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,04 % de Tween 20 p/v; L-histidina 20 mM; y trehalosa 250 mM; y tiene un pH de 5,5; o 5) 75 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,02 % de Tween 20 p/v; L-histidina 20 mM; y trehalosa 250 mM; y tiene un pH de 5,5.

Como otro ejemplo, una formulación parenteral objeto es una formulación líquida que comprende: 1) 7,5 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,02 % de Tween 20 p/v; L-histidina 120 mM; y sacarosa 250 125 mM; y tiene un pH de 5,5; o 2) 37,5 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,02 % de Tween 20 p/v; L-histidina 10 mM; y sacarosa 125 mM; y tiene un pH de 5,5; o 3) 37,5 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,01 % de Tween 20 p/v; L-histidina 10 mM; y sacarosa 125 mM; y tiene un pH de 5,5; o 4) 37,5 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,02 % de Tween 20 p/v; L-histidina 10 mM; 125 mM trehalosa; y tiene un pH de 5,5; o 5) 37,5 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,01 % de Tween 20 p/v; L-histidina 10 mM; y trehalosa 125 mM; y tiene un pH de 5,5; o 6) 5 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,02 % de Tween 20 p/v; L-histidina 20 mM; y trehalosa 250 mM; y tiene un pH de 5,5; o 7) 75 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,02 % de Tween 20 p/v; L-histidina 20 mM; y manitol 250 mM; y tiene un pH de 5,5; o 8) 75 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,02 % de Tween 20 p/v; L-histidina 20 mM; y cloruro sódico 140 mM; y tiene un pH de 5,5; o 9) 150 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,02 % de Tween 20 p/v; L-histidina 20 mM; y trehalosa 250 mM; y tiene un pH de 5,5; o 10) 150 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,02 % de Tween 20 p/v; L-histidina 20 mM; y manitol 250 mM; y tiene un pH de 5,5; o 11) 150 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,02 % de Tween 20 p/v; L-histidina 20 mM; y cloruro sódico 140 mM; y tiene un pH de 5,5; o 12) 10 mg/ml de un anticuerpo objeto; 0,01 % de Tween 20 p/v; L-histidina 20 mM; y cloruro sódico 40 mM; y tiene un pH de 5,5.

Un anticuerpo objeto se puede utilizar en formulación en aerosol a administrar por inhalación. Un anticuerpo objeto se puede formular en propulsores presurizados aceptables, tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno y similares. Las formulaciones en aerosol, tales como formulaciones en espray nasal, incluyen disoluciones acuosas purificadas u otras del agente activo con conservantes y agentes isotónicos. Dichas formulaciones se ajustan a un pH y estado isotónico compatible con las membranas mucosas nasales.

Las formas farmacéuticas unitarias para administración por vía oral, tales como jarabes, elixires y suspensiones, se pueden proporcionar en donde cada unidad de administración, por ejemplo, cucharadita, cucharada o comprimido, contiene una cantidad predeterminada de la composición. Similarmente, las formas farmacéuticas unitarias para inyección o administración intravenosa pueden comprender un anticuerpo objeto en una composición como una disolución en agua estéril, solución salina normal u otro vehículo farmacéuticamente aceptable.

El término "forma farmacéutica unitaria", como se usa en el presente documento, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como administraciones unitarias para sujetos humanos y animales, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, calculada en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado en asociación con un diluyente farmacéuticamente aceptable, excipiente o vehículo. Las especificaciones para un anticuerpo objeto pueden depender del anticuerpo particular empleado y el efecto a lograr, y la farmacodinámica asociada a cada anticuerpo en el hospedador.

Otros modos de administración también encontrarán uso con un uso de la presente invención. Por ejemplo, un anticuerpo objeto se puede formular en supositorios y, en algunos casos, aerosol y composiciones intranasales. Para supositorios, la composición del vehículo incluirá aglutinantes y vehículos tradicionales, tales como polialquilenglicoles, o triglicéridos. Dichos supositorios se pueden formar a partir de mezclas que contienen el principio activo en el intervalo de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 10 % (p/p), por ejemplo, aproximadamente 1 % a aproximadamente 2 %.

Las formulaciones intranasales incluirán normalmente vehículos que ni causan irritación a la mucosa nasal ni altera significativamente la función ciliar. Se pueden emplear diluyentes, tales como agua, solución salina acuosa u otras sustancias conocidas. Las formulaciones nasales también pueden contener conservantes, tales como, pero no se limitan a, clorobutanol y cloruro de benzalconio. Puede estar presente un tensioactivo para potenciar la absorción del anticuerpo objeto por la mucosa nasal.

Un anticuerpo objeto se puede administrar como una formulación inyectable. Normalmente, las composiciones inyectables se preparan como disoluciones o suspensiones líquidas; también se pueden preparar formas sólidas adecuadas para disolución en, o suspensión en, vehículos líquidos antes de la inyección. La preparación también se puede emulsionar o el anticuerpo encapsular en vehículos de liposoma.

Vehículos de excipiente adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol, etanol o similares, y combinaciones de los mismos. Además, si se desea, el vehículo puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares, tales como humectantes o emulsionantes o agentes de tamponamiento del pH. Se conocen los métodos de preparación de dichas formas farmacéuticas actuales, o serán evidentes, para los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 17<sup>a</sup> edición, 1985. La composición o formulación a administrar contendrá, en cualquier caso, una cantidad de un anticuerpo objeto adecuada para lograr el estado deseado en el sujeto que está tratándose.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como vehículos, adyuvantes, excipientes o diluyentes, están fácilmente disponibles para el público. Además, las sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, tales como los agentes de ajuste del pH y de tamponamiento, agentes de ajuste de la tonicidad, estabilizadores, humectantes y similares, están fácilmente disponibles para el público.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se formula en una formulación de liberación controlada. Se pueden preparar preparaciones de liberación sostenida usando métodos bien conocidos en la técnica. Ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el anticuerpo en el que las matrices están en forma de artículos moldeados, por ejemplo, películas o microcápsulas. Los ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, copolímeros de ácido L-glutámico y etil-L-glutamato, etileno-acetato de vinilo no degradable, hidrogeles, poliilactidas, copolímeros degradables de ácido láctico-ácido glicólico y ácido poli-D-(-)-3-hidroxitubúrico. La posible pérdida de actividad biológica y los posibles cambios en la inmunogenicidad de anticuerpos comprendidos en las preparaciones de liberación sostenida se pueden prevenir usando aditivos apropiados, controlando el contenido de humedad y desarrollando composiciones de matriz de polímero específicas.

Por liberación controlada dentro del alcance de la presente invención se puede entender una cualquiera de varias formas farmacéuticas de liberación prolongada. Se puede considerar que los siguientes términos son sustancialmente equivalentes a la liberación controlada, para los fines de la presente invención:

liberación continua, liberación controlada, liberación retardada, liberación mantenida, liberación extendida, liberación gradual, liberación inmediata, liberación a largo plazo, liberación programada, liberación prolongada, liberación equilibrada, liberación larga, acción prolongada, diferida, liberación lenta, liberación espaciada, liberación sostenida, recubrimiento con el tiempo, liberación cronometrada, acción retardada, acción extendida, acción con el tiempo-capas, de acción prolongada, acción prolongada, acción repetida, acción lenta, acción sostenida y medicaciones de acción sostenida.

Discusiones adicionales de estos términos se pueden encontrar en Lesczek Krowczynski, Extended-Release Dosage Forms, 1987 (CRC Press, Inc.).

Las diversas de tecnologías de liberación controlada engloban un espectro muy ancho de formas de administración de fármacos. Las tecnologías de liberación controlada incluyen, pero no se limitan a, sistemas físicos y sistemas químicos.

Los sistemas físicos incluyen, pero no se limitan a, sistemas de depósito con membranas de control de la velocidad, tales como sistemas de microencapsulación, macroencapsulación y membrana; sistemas de depósito sin membranas de control de la velocidad, tales como fibras huecas, triacetato de celulosa ultramicroporoso y sustratos y espumas poliméricos porosos; sistemas monolíticos, que incluyen los sistemas físicamente disueltos en matrices no porosas, poliméricas o elastoméricas (por ejemplo, no erosionables, erosionables, entrada de agentes medioambientales y degradables), y materiales físicamente dispersados en matrices no porosas, poliméricas o elastoméricas (por ejemplo, no erosionables, erosionables, entrada de agentes medioambientales y degradables); estructuras laminadas, que

incluyen capas de depósito químicamente similares o distintas a las capas de control externo; y otros métodos físicos, tales como bombas osmóticas, o adsorción sobre resinas de intercambio iónico.

Los sistemas químicos incluyen, pero no se limitan a, erosión química de matrices de polímero (por ejemplo, erosión heterogénea u homogénea), o erosión biológica de una matriz de polímero (por ejemplo, heterogénea u homogénea).

5 Discusión adicional de categorías de sistemas para la liberación controlada se puede encontrar en Agis F. Kydonieus, Controlled Release Technologies: Methods, Theory and Applications, 1980 (CRC Press, Inc.).

Existen varias formulaciones de fármaco de liberación controlada que se desarrollan para administración por vía oral. Estas incluyen, pero no se limitan a, sistemas de administración gastrointestinal controlados por presión osmótica; sistemas de administración gastrointestinal controlados por presión hidrodinámica; sistemas de administración gastrointestinal controlados por permeación de la membrana, que incluyen dispositivos de administración gastrointestinal controlados por permeación de membrana microporosa; dispositivos de administración gastrointestinal de liberación controlada dirigida al intestino resistentes a los jugos gástricos; sistemas de administración gastrointestinal controlados por difusión en gel; y sistemas de administración gastrointestinal controlados por intercambio iónico, que incluyen fármacos catiónicos y aniónicos. Información adicional referente a los sistemas de administración de fármacos de liberación controlada se puede encontrar en Yie W. Chien, Novel Drug Delivery Systems, 1992 (Marcel Dekker, Inc.).

#### Dosis

Un médico adjunto u otro personal médico cualificado puede determinar una dosis adecuada basándose en diversos factores clínicos. Como se conoce bien en las artes médicas, las dosis para un paciente cualquiera dependen de muchos factores, que incluyen el tamaño del paciente, el área superficial del cuerpo, la edad, el compuesto particular a administrar, el sexo del paciente, el momento y la vía de administración, la salud general, y otros fármacos que se administran simultáneamente. Un anticuerpo objeto se puede administrar en cantidades entre 1 ng/kg de peso corporal y 20 mg/kg de peso corporal por dosis, por ejemplo entre 0,1 mg/kg de peso corporal y 10 mg/kg de peso corporal, por ejemplo, entre 0,5 mg/kg de peso corporal y 5 mg/kg de peso corporal; sin embargo, se prevén dosis por debajo o por encima de este intervalo a modo de ejemplo, especialmente considerando los factores anteriormente mencionados. Si el régimen es una infusión continua, también puede estar en el intervalo de 1 µg a 10 mg por kilogramo de peso corporal por minuto.

En algunas realizaciones, una dosis de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención está en el intervalo de 0,001 µg a 1000 µg; sin embargo, se prevén dosis por debajo o por encima de este intervalo a modo de ejemplo, especialmente considerando los factores anteriormente mencionados. En algunas realizaciones, la dosis puede variar, por ejemplo, desde aproximadamente 0,0001 hasta 100 mg/kg, o desde aproximadamente 0,01 hasta 5 mg/kg (por ejemplo, 0,02 mg/kg, 0,25 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,75 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg, etc.) de peso corporal. Por ejemplo, las dosis pueden ser 1 mg/kg de peso corporal o 10 mg/kg de peso corporal o dentro del intervalo de 1-10 mg/kg, o al menos 1 mg/kg. También se prevé que dosis intermedias en los intervalos anteriores estén dentro del alcance de la invención.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención se administra en una cantidad que proporciona una concentración pico en suero de desde aproximadamente 1 µg/ml hasta aproximadamente 1 mg/ml, por ejemplo, desde aproximadamente 1 µg/ml hasta aproximadamente 2,5 µg/ml, desde aproximadamente 2,5 µg/ml hasta aproximadamente 5 µg/ml, desde aproximadamente 5 µg/ml hasta aproximadamente 7,5 µg/ml, desde aproximadamente 7,5 µg/ml hasta aproximadamente 10 µg/ml, desde aproximadamente 10 µg/ml hasta aproximadamente 25 µg/ml, desde aproximadamente 25 µg/ml hasta aproximadamente 50 µg/ml, desde aproximadamente 50 µg/ml hasta aproximadamente 100 µg/ml, desde aproximadamente 100 µg/ml hasta aproximadamente 250 µg/ml, desde aproximadamente 250 µg/ml hasta aproximadamente 500 µg/ml, desde aproximadamente 500 µg/ml hasta aproximadamente 750 µg/ml, o desde aproximadamente 750 µg/ml hasta aproximadamente 1000 µg/ml. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s objeto se administra en una cantidad que proporciona una concentración pico en suero superior a 1 mg/ml, por ejemplo, desde aproximadamente 1 mg/ml hasta aproximadamente 2 mg/ml, desde aproximadamente 2 mg/ml hasta aproximadamente 5 mg/ml, o desde aproximadamente 5 mg/ml hasta aproximadamente 10 mg/ml. Un anticuerpo humanizado de la presente invención se puede administrar según cualquier programa y durante cualquier periodo de tiempo.

Los expertos apreciarán fácilmente que los niveles de dosis y los programas de administración pueden variar en función del anticuerpo específico, la gravedad de los síntomas y la susceptibilidad del sujeto a los efectos secundarios. Dosis y programas de administración preferidos para un compuesto dado son fácilmente determinables por los expertos en la técnica mediante una variedad de medios.

#### Vías de administración

Un anticuerpo de la presente invención para el uso en el tratamiento de un trastorno mediado por el complemento se administra a un individuo usando cualquier método y vía disponible adecuado para la administración del fármaco, que incluye métodos *in vivo* y *ex vivo*, así como vías de administración sistémicas y localizadas.

Vías de administración convencionales y farmacéuticamente aceptables incluyen administración intranasal, intramuscular, intratraqueal, intratecal, intracraneal, subcutánea, intradérmica, tópica, intravenosa, intraperitoneal, intrarterial (por ejemplo, por la arteria carótida), espinal o cerebral, rectal, nasal, oral, y otras vías de administración enterales y parenterales. Las vías de administración se pueden combinar, si se desea, o ajustar dependiendo del anticuerpo y/o el efecto deseado. Una composición de anticuerpo objeto se puede administrar en una dosis única o en dosis múltiples. En algunas realizaciones, una composición de anticuerpo objeto se administra por vía oral. En algunas realizaciones, una composición de anticuerpo objeto se administra por vía intranasal. En algunas realizaciones, una composición de anticuerpo objeto se administra por vía local. En algunas realizaciones, una composición de anticuerpo objeto se administra por vía intracraneal. En algunas realizaciones, una composición de anticuerpo objeto se administra por vía intravenosa. En algunas realizaciones, una composición de anticuerpo objeto se administra por vía subcutánea. En algunas realizaciones, una composición de anticuerpo objeto se administra por vía intramuscular. En algunas realizaciones, una composición de anticuerpo objeto se administra por vía intratecal.

Un anticuerpo de la presente invención se puede administrar a un hospedador usando cualquier método y vía convencional disponible adecuada para la administración de fármacos convencionales, que incluye vías sistémicas o localizadas. En general, las vías de administración contempladas por la invención incluyen, pero no están necesariamente limitadas a, las vías enteral, parenteral o por inhalación.

Vías de administración parenteral distintas de administración por inhalación incluyen, pero no se limitan necesariamente a, las vías tópica, transdérmica, subcutánea, intramuscular, intraorbital, intracapsular, intraespinal, intraesternal, intratecal e intravenosa, es decir, cualquier vía de administración distinta de a través del tubo digestivo. La administración parenteral puede ser llevada a cabo para efectuar la administración sistémica o local de un anticuerpo objeto. Donde se desee la administración sistémica, la administración implica normalmente administración tópica o a la mucosa invasiva o absorbida por vía sistémica de preparaciones farmacéuticas.

Un anticuerpo de la presente invención para el uso en el tratamiento de un trastorno mediado por el complemento también se puede administrar al sujeto por administración enteral. Las vías de administración enteral incluyen, pero no se limitan necesariamente a, administración oral y rectal (por ejemplo, usando un supositorio).

Mediante tratamiento se indica al menos una mejora de los síntomas asociados a la afección patológica que aqueja al hospedador, donde mejora se usa en un amplio sentido para referirse a al menos una reducción en la magnitud de un parámetro, por ejemplo, un síntoma, asociado a la afección patológica que está tratándose, tal como una enfermedad o trastorno mediado por el complemento. Como tal, el tratamiento también incluye situaciones donde la afección patológica, o al menos los síntomas asociados a ella, son inhibidos completamente, por ejemplo, se previene que ocurran, o se detienen, por ejemplo finalizan, de forma que el hospedador ya no padezca la afección patológica, o al menos los síntomas que caracterizan a la afección patológica.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención para el uso en el tratamiento de un trastorno mediado por el complemento se administra por inyección y/o administración, por ejemplo, a un sitio en una arteria cerebral o directamente en el tejido cerebral. Un anticuerpo objeto humanizado también puede ser administrado directamente a un sitio diana, por ejemplo, por administración biolística al sitio diana.

Una variedad de hospedadores (en donde el término "hospedador" se usa indistintamente en el presente documento con los términos "sujeto", "individuo" y "paciente") son tratables según los métodos objeto. En general, dichos hospedadores son "mamíferos" o "de mamífero", donde estos términos se usan ampliamente para describir organismos que están dentro de la clase de los mamíferos, que incluye los órdenes carnívoros (por ejemplo, gatos), herbívoros (por ejemplo, ganado vacuno, caballos y ovejas), omnívoros (por ejemplo, perros, cabras y cerdos), roedores (por ejemplo, ratones, cobayas y ratas) y primates (por ejemplo, seres humanos, chimpancés y monos). En algunas realizaciones, el hospedador es un individuo que tiene un sistema del complemento, tal como un mamífero, pez o invertebrado. En algunas realizaciones, el hospedador es un mamífero, pez o animal de compañía invertebrado, animal agrícola, animal de trabajo, animal de zoológico o animal de laboratorio que contiene el sistema del complemento. En algunas realizaciones, el hospedador es humano.

Las realizaciones incluyen composiciones que comprenden un recipiente adecuado para contener una composición que comprende un anticuerpo anti-C1s objeto para administración a un individuo. Por ejemplo, un anticuerpo objeto puede ser dispuesto dentro de un recipiente adecuado para contener una composición farmacéutica. El recipiente puede ser, por ejemplo, una botella (por ejemplo, con un dispositivo de cierre, tal como una tapa), un envase alveolado (por ejemplo, que puede proporcionar el cierre de una o más dosis por blíster), un vial, envase flexible (por ejemplo, bolsas de Mylar o plástico selladas), una ampolla (para dosis únicas en disolución), un cuentagotas, una jeringa, película delgada, un tubo y similares. En algunas realizaciones, un recipiente, tal como un recipiente estéril, comprende una composición farmacéutica objeto. En algunas realizaciones, el recipiente es una botella o una jeringa. En algunas realizaciones, el recipiente es una botella. En algunas realizaciones, el recipiente es una jeringa.

Se desvelan kits con dosis unitarias de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, por ejemplo, se proporcionan en dosis orales o inyectables. En dichos kits, además de los recipientes que contienen las dosis unitarias, habrá un prospecto informativo que describe el uso y los beneficios relacionados del anticuerpo en el tratamiento de

la afección patológica de interés. Compuestos preferidos y dosis unitarias son los descritos en el presente documento anteriormente.

#### ANTICUERPO ANTI-C1s HUMANIZADO PARA EL USO EN EL TRATAMIENTO DE UNA ENFERMEDAD O TRASTORNO MEDIADO POR EL COMPLEMENTO

5 La presente invención proporciona un anticuerpo anti-C humanizado de la invención para el uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por el complemento. El uso implica, en general, administrar una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo, a un individuo en necesidad del mismo. En algunos casos, la administración de un anticuerpo anti-C1s objeto modula la actividad del complemento C1s en una célula, un tejido, un líquido o un órgano de un individuo,  
10 y trata la enfermedad o trastorno mediado por el complemento. En algunos casos, el anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención para el uso en el tratamiento de un trastorno mediado por el complemento inhibe la activación de componente del complemento C4 en un individuo, comprendiendo el uso administrar al individuo una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención o una composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo. En algunos casos, el anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención para el  
15 uso en el tratamiento de un trastorno mediado por el complemento inhibe la actividad del complemento C1s en un individuo, comprendiendo el uso administrar al individuo una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención o una composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo. En algunos casos, el anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención para el uso en el tratamiento de un trastorno mediado por el complemento reduce el nivel de un producto de escisión del componente del complemento en un individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en un individuo), comprendiendo el uso administrar al individuo una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención o una composición farmacéutica que  
20 comprende dicho anticuerpo.

La presente invención se refiere a un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención para el uso para tratar un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento que comprende administrar al  
25 individuo una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención o una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende: a) un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención; y un excipiente farmacéuticamente aceptable adecuado para administración a dicho individuo. En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero. En algunas realizaciones, el individuo es un ser humano. La administración puede ser por cualquier vía conocida por los expertos en la técnica, que incluye las desveladas en el presente documento. En  
30 algunas realizaciones, la administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la administración es intratecal. En algunas realizaciones, la administración es subcutánea. En algunas realizaciones, la administración es intramuscular.

En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, reduce el nivel de un producto de escisión del componente del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo). En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad del mismo, reduce el nivel de un producto de escisión del componente del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo) en al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 %, en comparación con el nivel del producto de escisión del componente del complemento en el líquido, tejido u órgano en ausencia de tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado, por ejemplo, antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado. En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero. En algunas realizaciones, el individuo es un ser humano. La administración puede ser por cualquier vía conocida por los expertos en la técnica, que incluye las desveladas en el presente documento. En algunas realizaciones, la administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la vía de administración es intratecal. En algunas realizaciones, la vía de administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la vía de administración es subcutánea. En algunas realizaciones, la vía de administración es intramuscular.  
50

En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, reduce la actividad de la vía clásica del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo). En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, reduce, en aproximadamente 48 horas, en aproximadamente 24 horas, en aproximadamente 12 horas, en aproximadamente 8 horas, o en aproximadamente 4 horas desde la administración del anticuerpo anti-C1s humanizado, la actividad de la vía clásica del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo), en al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o 100 %, en comparación con el nivel de la actividad de la vía clásica del complemento en el individuo en ausencia de tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado, por ejemplo, antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado.  
55  
60

al menos 95 %, o 100 %, en comparación con la actividad de la vía clásica del complemento en el líquido, tejido u órgano en ausencia de tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado, por ejemplo, antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado. En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero. En algunas realizaciones, el individuo es un ser humano. La administración del anticuerpo anti-C1s humanizado puede ser por cualquier vía conocida por los expertos en la técnica, que incluye las desveladas en el presente documento. En algunas realizaciones, la vía de administración es intratecal. En algunas realizaciones, la vía de administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la vía de administración es subcutánea. El nivel de actividad de la vía clásica del complemento se puede determinar usando cualquiera de una variedad de métodos. Como un ejemplo no limitante, la actividad de la vía clásica del complemento se puede determinar *ex vivo*, por ejemplo, determinando el nivel de actividad de la vía clásica del complemento en una muestra de sangre, suero o plasma obtenida del individuo. Por ejemplo, la vía clásica del complemento en la muestra de sangre, suero o plasma se puede activar *ex vivo*, y se puede determinar la cantidad de un producto de escisión del componente del complemento (tal como C5b-9) generada por dicha activación.

En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, reduce la actividad de la vía clásica del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo). En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, reduce, en aproximadamente 48 horas, en aproximadamente 24 horas, en aproximadamente 12 horas, en aproximadamente 8 horas, o en aproximadamente 4 horas desde la administración del anticuerpo anti-C1s humanizado, el nivel de actividad de la vía clásica del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo), en al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, o 100 %, en comparación con el nivel de la actividad de la vía clásica del complemento en el líquido, tejido u órgano en ausencia de tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado, por ejemplo, antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado. En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero. En algunas realizaciones, el individuo es un ser humano. La administración del anticuerpo anti-C1s humanizado puede ser por cualquier vía conocida por los expertos en la técnica, que incluye las desveladas en el presente documento. En algunas realizaciones, la vía de administración es intratecal. En algunas realizaciones, la vía de administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la vía de administración es subcutánea. En algunas realizaciones, la vía de administración es intramuscular.

En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, reduce la actividad de la vía clásica del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo). En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, mantiene una reducción en el nivel de actividad de la vía clásica del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo) de al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, o 100 %, en comparación con el nivel de la actividad de la vía clásica del complemento en el líquido, tejido u órgano en ausencia de tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado, por ejemplo, antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado, donde la reducción se mantiene durante un periodo de tiempo de desde aproximadamente 4 horas hasta aproximadamente 30 días (por ejemplo, desde 4 horas hasta 8 horas, desde 8 horas hasta 24 horas, desde 2 días hasta 4 días, desde 4 días hasta 7 días, desde 7 días hasta 14 días, desde 14 días hasta 21 días, o desde 21 días hasta 30 días). En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero. En algunas realizaciones, el individuo es un ser humano. La administración del anticuerpo anti-C1s humanizado puede ser por cualquier vía conocida por los expertos en la técnica, que incluye las desveladas en el presente documento. En algunas realizaciones, la vía de administración es intratecal. En algunas realizaciones, la vía de administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la vía de administración es subcutánea. En algunas realizaciones, la vía de administración es intramuscular.

En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, reduce la actividad de la vía clásica del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo). En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, mantiene una reducción en el nivel de actividad de la vía clásica del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo) de al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, o 100 %, en

comparación con el nivel de actividad de la vía clásica del complemento en el líquido, tejido u órgano en ausencia de tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado, por ejemplo, antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado, donde la reducción se mantiene durante un periodo de tiempo de desde aproximadamente 4 horas hasta aproximadamente 21 días (por ejemplo, desde 4 horas hasta 8 horas, desde 8 horas hasta 24 horas, desde 2 días hasta 4 días, desde 4 días hasta 7 días, desde 7 días hasta 14 días, o desde 14 días hasta 21 días). En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero. En algunas realizaciones, el individuo es un ser humano. La administración del anticuerpo anti-C1s humanizado puede ser por cualquier vía conocida por los expertos en la técnica, que incluye las desveladas en el presente documento. En algunas realizaciones, la vía de administración es intratecal. En algunas realizaciones, la vía de administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la vía de administración es subcutánea. En algunas realizaciones, la vía de administración es intramuscular.

En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, reduce el nivel de un producto de escisión del componente del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo). En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, reduce, en aproximadamente 48 horas, en aproximadamente 24 horas, en aproximadamente 12 horas, en aproximadamente 8 horas, o en aproximadamente 4 horas desde la administración del anticuerpo anti-C1s humanizado, el nivel de un producto de escisión del componente del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo), en al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, o 100 %, en comparación con el nivel del producto de escisión del componente del complemento en el líquido, tejido u órgano en ausencia de tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado, por ejemplo, antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado. En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero. En algunas realizaciones, el individuo es un ser humano. La administración del anticuerpo anti-C1s humanizado puede ser por cualquier vía conocida por los expertos en la técnica, que incluye las desveladas en el presente documento. En algunas realizaciones, la vía de administración es intratecal. En algunas realizaciones, la vía de administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la vía de administración es subcutánea. En algunas realizaciones, la vía de administración es intramuscular.

En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, reduce el nivel de un producto de escisión del componente del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo). En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, reduce, en aproximadamente 48 horas, en aproximadamente 24 horas, en aproximadamente 12 horas, en aproximadamente 8 horas, o en aproximadamente 4 horas desde la administración del anticuerpo anti-C1s humanizado, el nivel de un producto de escisión del componente del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo), en al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, o 100 %, en comparación con el nivel del producto de escisión del componente del complemento en el líquido, tejido u órgano en ausencia de tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado, por ejemplo, antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado. En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero. En algunas realizaciones, el individuo es un ser humano. La administración del anticuerpo anti-C1s humanizado puede ser por cualquier vía conocida por los expertos en la técnica, que incluye las desveladas en el presente documento. En algunas realizaciones, la vía de administración es intratecal. En algunas realizaciones, la vía de administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la vía de administración es subcutánea. En algunas realizaciones, la vía de administración es intramuscular.

En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, mantiene una reducción en el nivel de un producto de escisión del componente del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo) de al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, o 100 %, en comparación con el nivel del producto de escisión del componente del complemento en el líquido, tejido u órgano en ausencia de tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado, por ejemplo, antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s

humanizado, donde la reducción se mantiene durante un periodo de tiempo de desde aproximadamente 4 horas hasta aproximadamente 30 días (por ejemplo, desde 4 horas hasta 8 horas, desde 8 horas hasta 24 horas, desde 2 días hasta 4 días, desde 4 días hasta 7 días, desde 7 días hasta 14 días, desde 14 días hasta 21 días, o desde 21 días hasta 30 días). En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero. En algunas realizaciones, el individuo es un ser humano. La administración del anticuerpo anti-C1s humanizado puede ser por cualquier vía conocida por los expertos en la técnica, que incluye las desveladas en el presente documento. En algunas realizaciones, la vía de administración es intratecal. En algunas realizaciones, la vía de administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la vía de administración es subcutánea. En algunas realizaciones, la vía de administración es intramuscular.

En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, reduce el nivel de un producto de escisión del componente del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo). En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, mantiene una reducción en el nivel de un producto de escisión del componente del complemento en el individuo (por ejemplo, en un líquido, tejido u órgano en el individuo) de al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, o 100 %, en comparación con el nivel del producto de escisión del componente del complemento en el líquido, tejido u órgano en ausencia de tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado, por ejemplo, antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado, donde la reducción se mantiene durante un periodo de tiempo de desde aproximadamente 4 horas hasta aproximadamente 21 días (por ejemplo, desde 4 horas hasta 8 horas, desde 8 horas hasta 24 horas, desde 2 días hasta 4 días, desde 4 días hasta 7 días, desde 7 días hasta 14 días, o desde 14 días hasta 21 días). En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero. En algunas realizaciones, el individuo es un ser humano. La administración del anticuerpo anti-C1s humanizado puede ser por cualquier vía conocida por los expertos en la técnica, que incluye las desveladas en el presente documento. En algunas realizaciones, la vía de administración es intratecal. En algunas realizaciones, la vía de administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la vía de administración es subcutánea. En algunas realizaciones, la vía de administración es intramuscular.

En algunos casos, una "cantidad eficaz" de un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, o una "cantidad eficaz" de una composición farmacéutica objeto que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo en necesidad de la misma, reduce la producción de C4b2a (es decir, complejo del complemento C4b y C2a; también conocido como "C3 convertasa") en el individuo (o en un líquido, tejido u órgano del individuo) en al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, o 100 %, en comparación con la cantidad de C4b2a producida en el individuo o el líquido, tejido u órgano, en ausencia de tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado, por ejemplo, antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s humanizado. En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero. En algunas realizaciones, el individuo es un ser humano. La administración puede ser por cualquier vía conocida por los expertos en la técnica, que incluye las desveladas en el presente documento. En algunas realizaciones, la administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la vía de administración es intratecal. En algunas realizaciones, la vía de administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la vía de administración es subcutánea. En algunas realizaciones, la vía de administración es intramuscular.

La presente invención proporciona un anticuerpo anti-C1s humanizado de la invención que puede modular la activación del complemento. En algunas realizaciones, el anticuerpo de la invención inhibe la activación del complemento, por ejemplo, para reducir la producción de C4b2a. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-C1s humanizado para el uso en el tratamiento del individuos que tienen una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, comprendiendo el uso administrar al individuo un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención o una composición farmacéutica de la presente invención, en donde la composición farmacéutica comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención. En algunas realizaciones, dicho método inhibe la activación del complemento. En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero. En algunas realizaciones, el individuo es un ser humano. La administración puede ser por cualquier vía conocida por los expertos en la técnica, que incluye las desveladas en el presente documento. En algunas realizaciones, la administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la administración es intratecal. En algunas realizaciones, la administración es subcutánea. En algunas realizaciones, la vía de administración es intramuscular.

Una enfermedad o trastorno mediado por el complemento es un trastorno caracterizado por una cantidad anormal del complemento C1s o un nivel anormal de la actividad proteolítica del complemento C1s en una célula, un tejido, un líquido o un órgano de un individuo.

En algunos casos, una enfermedad o trastorno mediado por el complemento se caracteriza por la presencia en una célula, un tejido o un líquido de una cantidad elevada (superior a la normal) de C1s o de un nivel elevado de la actividad del complemento C1s. Por ejemplo, en algunos casos, una enfermedad o trastorno mediado por el complemento se caracteriza por la presencia en tejido cerebral y/o líquido cefalorraquídeo de una cantidad elevada y/o una actividad

elevada de C1s. Una cantidad "superior a la normal" de C1s en una célula, un tejido o un líquido indica que la cantidad de C1s en la célula, tejido o líquido es superior a un nivel de control normal, por ejemplo, superior a un nivel de control normal para un individuo o población de individuos del mismo grupo de edad. Un nivel "superior al normal" de actividad de C1s en una célula, un tejido, un órgano o un líquido indica que la escisión proteolítica efectuada por C1s en la célula, tejido, órgano o líquido es superior a un nivel de control normal, por ejemplo, superior a un nivel de control normal para un individuo o población de individuos del mismo grupo de edad. En algunos casos, un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento presenta uno o más síntomas adicionales de dicha enfermedad o trastorno.

En otros casos, una enfermedad o trastorno mediado por el complemento se caracteriza por la presencia en una célula, un tejido o un líquido de una cantidad inferior a la normal de C1s o de un nivel más bajo de la actividad del complemento C1s. Por ejemplo, en algunos casos, una enfermedad o trastorno mediado por el complemento se caracteriza por la presencia en tejido cerebral y/o líquido cefalorraquídeo de una menor cantidad y/o una menor actividad de C1s. Una cantidad "inferior a la normal" de C1s en una célula, un tejido o un líquido indica que la cantidad de C1s en la célula, tejido o líquido es inferior a un nivel de control normal, por ejemplo, inferior a un nivel de control normal para un individuo o población de individuos del mismo grupo de edad. Un nivel "inferior al normal" de actividad de C1s en una célula, un tejido o un líquido indica que la escisión proteolítica efectuada por C1s en la célula, tejido o líquido es inferior a un nivel de control normal, por ejemplo, inferior a un nivel de control normal para un individuo o población de individuos del mismo grupo de edad. En algunos casos, un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento presenta uno o más síntomas adicionales de dicha enfermedad o trastorno.

Una enfermedad o trastorno mediado por el complemento es una enfermedad o trastorno en el que la cantidad o actividad del complemento C1s es tal como para provocar una enfermedad o trastorno en un individuo. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento se selecciona del grupo que consiste en enfermedad aloinmunitaria, enfermedad autoinmune, cáncer, enfermedad hematológica, enfermedad infecciosa, enfermedad inflamatoria, lesión por isquemia-reperusión, enfermedad neurodegenerativa, trastorno neurodegenerativo, enfermedad ocular, enfermedad renal, rechazo de trasplante, enfermedad vascular y enfermedad de vasculitis. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es una enfermedad autoinmune. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es una enfermedad aloinmunitaria. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es cáncer. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es una enfermedad infecciosa. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es una enfermedad inflamatoria. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es una enfermedad hematológica. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es una lesión por isquemia-reperusión. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es enfermedad ocular. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es una enfermedad renal. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es rechazo de trasplante. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es rechazo de trasplante mediado por anticuerpo. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es una enfermedad vascular. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es un trastorno vasculítico. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es una enfermedad o trastorno neurodegenerativo. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es una enfermedad neurodegenerativa. En algunas realizaciones, el trastorno mediado por el complemento es un trastorno neurodegenerativo.

Los ejemplos de una enfermedad o trastorno mediado por el complemento incluyen, pero no se limitan a, degeneración macular relacionada con la edad, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, anafilaxia, demencia con granos argirófilos, artritis (por ejemplo, artritis reumatoide), asma, aterosclerosis, síndrome urémico hemolítico atípico, enfermedades autoinmunes (incluyendo, por ejemplo, anemia hemolítica autoinmune (AHA1); AHA1 caliente; AHA1 mixta; etc.), síndrome de Barraquer-Simons, enfermedad de Behçet, angiopatía amiloide de tipo británica, pénfigo ampolloso, enfermedad de Buerger, nefropatía C1q, cáncer, síndrome antifosfolípido catastrófico, angiopatía amiloide cerebral, enfermedad de las aglutininas frías, degeneración corticobasal, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, enfermedad de Crohn, vasculitis crioglobulinémica, demencia pugilística, demencia con cuerpos de Lewy (DCL), ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, lupus eritematoso discoide, síndrome de Down, síndrome de Evans, glomeruloesclerosis segmentaria focal, trastorno formal del pensamiento, demencia frontotemporal (DFT), demencia frontotemporal con parkinsonismo ligado al cromosoma 17, degeneración frontotemporal lobar, enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker, síndrome de Guillain-Barre, enfermedad de Hallervorden-Spatz, síndrome hemolítico urémico, angioedema hereditario, hipofosfatasa, síndrome de neumonía idiopática, enfermedades por inmunocomplejos, miositis por cuerpos de inclusión, enfermedad infecciosa (por ejemplo, enfermedad provocada por agentes bacterianos (por ejemplo, *Neisseria meningitidis* o *Streptococcus*), virales (por ejemplo, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)), u otros agentes infecciosos), enfermedad inflamatoria, lesión por isquemia / reperusión, deterioro cognitivo leve, púrpura inmunotrombocitopénica (PIT), deficiencia de cofactor de molibdeno (MoCD) de tipo A, glomerulonefritis membranoproliferativa (GNMP) I, glomerulonefritis membranoproliferativa (GNMP) II (enfermedad de depósitos densos), nefritis membranosa, demencia multiinfarto, lupus (por ejemplo, lupus eritematoso sistémico (LES)), glomerulonefritis, enfermedad de Kawasaki, neuropatía motora multifocal, esclerosis múltiple, atrofia multisistémica, miastenia grave, infarto de miocardio, distrofia miotónica, neuromielitis óptica,

5 enfermedad de Niemann-Pick de tipo C, enfermedad de las neuronas motoras no guamaniana con ovillos neurofibrilares, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Parkinson con demencia, hemoglobinuria paroxística nocturna, pénfigo vulgar, enfermedad de Pick, parkinsonismo postencefalítico, polimiositis, angiopatía amiloide cerebral por proteínas priónicas, gliosis subcortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva, psoriasis, septicemia, E. coli por toxina Shiga (STEC)-HuS, atrofia muscular espinal, accidente cerebrovascular, panencefalitis esclerosante subaguda, demencia de solo ovillos, rechazo de trasplante, vasculitis (por ejemplo, vasculitis asociada a ANCA), granulomatosis de Wegener, drepanocitosis, crioglobulinemia, crioglobulinemia mixta, crioglobulinemia mixta esencial, crioglobulinemia mixta de tipo II, crioglobulinemia mixta de tipo III, nefritis, trombocitopenia inducida por fármacos, nefritis lúpica, epidermólisis ampollosa adquirida, reacción transfusional hemolítica tardía, síndrome de vasculitis urticarial hipocomplementémica, queratitis ampollosa pseudofáquica y refractariedad plaquetaria.

10 En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento comprende enfermedad de Alzheimer. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento comprende enfermedad de Parkinson. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento comprende rechazo de trasplante. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por el complemento es rechazo de trasplante mediado por anticuerpos.

15 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado previene o retrasa la aparición de al menos un síntoma de una enfermedad o trastorno mediado por el complemento en un individuo. En alguna realización, un anticuerpo anti-C1s de la presente invención reduce o elimina al menos un síntoma de una enfermedad o trastorno mediado por el complemento en un individuo. Los ejemplos de síntomas incluyen, pero no se limitan a, síntomas asociados a una enfermedad autoinmune, cáncer, enfermedad hematológica, enfermedad infecciosa, enfermedad inflamatoria, lesión por isquemia-reperfusión, enfermedad neurodegenerativa, trastorno neurodegenerativo, enfermedad renal, rechazo de trasplante, enfermedad ocular, enfermedad vascular o un trastorno vasculítico. El síntoma puede ser un síntoma neurológico, por ejemplo, alteración de la función cognitiva, deterioro de la memoria, pérdida de función motora, etc. El síntoma también puede ser la actividad de la proteína C1s en una célula, tejido o líquido de un individuo. El síntoma también puede ser el grado de activación del complemento en una célula, tejido o líquido de un individuo.

20 En algunas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-C1s humanizado a un individuo modula la activación del complemento en una célula, tejido o líquido de un individuo. En algunas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-C1s objeto a un individuo inhibe activación del complemento en una célula, tejido o líquido de un individuo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo objeto anti-C1s humanizado, cuando se administra en una o más dosis como una monoterapia o en terapia de combinación a un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, inhibe la activación del complemento en el individuo el al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente el 15 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, o más de 90 %, en comparación con la activación del complemento en el individuo antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s.

30 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado reduce la deposición de C3 sobre glóbulos rojos; por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s de la presente invención reduce la deposición de C3b, iC3b, etc., sobre RBC). En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s de la presente invención inhibe la lisis de glóbulos rojos mediados por el complemento.

40 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado reduce la deposición de C3 sobre plaquetas; por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s de la presente invención reduce la deposición de C3b, iC3b, etc., sobre plaquetas).

45 En algunas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-C1s humanizado produce un resultado seleccionado del grupo que consiste en: (a) una reducción en la activación del complemento; (b) una mejora en la función cognitiva; (c) una reducción en la pérdida de neuronas; (d) una reducción en la activación de células de la glía; (e) una reducción en la infiltración de linfocitos; (f) una reducción en la infiltración de macrófagos; (g) una reducción en la deposición de anticuerpos, (h) una reducción en la pérdida de células de la glía; (i) una reducción en la pérdida de oligodendrocitos; (j) una reducción en la infiltración de células dendríticas; (k) una reducción en la infiltración de neutrófilos; (l) una reducción en la lisis de glóbulos rojos; (m) una reducción en la fagocitosis; de glóbulos rojos (n) una reducción en la fagocitosis de plaquetas; (o) una reducción en la lisis de plaquetas; (p) una mejora en la supervivencia de injerto trasplantado; (q) una reducción en la fagocitosis mediada por macrófagos; (r) una mejora en la vista; (s) una mejora en el control motor; (t) una mejora en la formación de trombos; (u) una mejora en la coagulación; (v) una mejora en la función renal; (w) una reducción en la activación del complemento mediada por anticuerpos; (x) una reducción en la activación del complemento mediada por autoanticuerpos; (y) una mejora en la anemia; (aa) reducción de la desmielinización; (ab) reducción de la eosinofilia; (ac) una reducción de la deposición de C3 sobre glóbulos rojos (por ejemplo, una reducción de la deposición de C3b, iC3b, etc., sobre RBC); y (ad) una reducción en la deposición de C3 sobre plaquetas (por ejemplo, una reducción de la deposición de C3b, iC3b, etc., sobre plaquetas); y (ae) una reducción de la producción de la toxina anafilotoxina; (af) una reducción en la formación de ampollas mediada por autoanticuerpos; (ag) una reducción en la prurito inducido por autoanticuerpos; (ah) una reducción en eritematoso inducido por autoanticuerpos; (ai) una reducción en la erosión de la piel mediada por autoanticuerpos; (aj) una

reducción en la destrucción de glóbulos rojos debida a reacciones transfusionales; (ak) una reducción en la lisis de glóbulos rojos debida a aloanticuerpos; (al) una reducción en la hemólisis debida a reacciones transfusionales; (am) una reducción en la lisis de plaquetas mediada por aloanticuerpos; (an) una reducción en la lisis de plaquetas debida a reacciones transfusionales; (ao) una reducción en la activación de mastocitos; (ap) una reducción en la liberación de histamina de mastocitos; (aq) una reducción en la permeabilidad vascular; (ar) una reducción en edema; (as) una reducción en la deposición de complemento sobre el endotelio de injerto trasplantado; (at) una reducción de la generación de anafilotoxina en endotelio de injerto trasplantado; (au) una reducción en la separación del límite dérmico-epidérmico; (av) una reducción en la generación de anafilotoxinas en el límite dérmico-epidérmico; (aw) una reducción en la activación mediada por aloanticuerpos del complemento en el endotelio de injerto trasplantado; (ax) una reducción en la pérdida mediada por anticuerpos de la unión neuromuscular; (ay) una reducción en la activación del complemento en la unión neuromuscular; (az) una reducción en la generación de anafilotoxinas en la unión neuromuscular; (ba) una reducción en la deposición de complemento en la unión neuromuscular; (bb) una reducción en la parálisis; (bc) una reducción en el entumecimiento; (bd) elevado control de la vejiga; (be) elevado control del intestino; (bf) una reducción en la mortalidad asociada a autoanticuerpos; y (bg) una reducción en la morbilidad asociada a autoanticuerpos.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s, cuando se administra en una o más dosis como monoterapia o en terapia de combinación a un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, se efectúa para lograr una reducción de al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 15 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, o más del 90 %, de uno o más de los siguientes resultados: (a) activación del complemento; (b) disminución en la función cognitiva; (c) pérdida de neuronas; (d) activación de células de la glía; (e) infiltración de linfocitos; (f) infiltración de macrófagos; (g) deposición de anticuerpos, (h) pérdida de células de la glía; (i) pérdida de oligodendrocitos; (j) infiltración de células dendríticas; (k) infiltración de neutrófilos; (l) lisis de glóbulos rojos; (m) fagocitosis de glóbulos rojos; (n) fagocitosis de plaquetas; (o) lisis de plaquetas; (p) rechazo de injerto trasplantado; (q) fagocitosis mediada por macrófagos; (r) pérdida de vista; (s) activación del complemento mediada por anticuerpos; (t) activación del complemento mediada por autoanticuerpos; (u) desmielinización; (v) eosinofilia; en comparación con el nivel o grado del resultado en el individuo antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s, cuando se administra en una o más dosis como monoterapia o en terapia de combinación a un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, se efectúa para lograr una mejora de al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 15 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, o más del 90 %, de uno o más de los siguientes resultados: a) función cognitiva; b) supervivencia del injerto trasplantado; c) vista; d) control motor; e) formación de trombos; f) coagulación; g) función renal; y h) hematocrito (número de eritrocitos), en comparación con el nivel o grado del resultado en el individuo antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s.

En algunas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-C1s humanizado a un individuo reduce la activación del complemento en el individuo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s objeto, cuando se administra en una o más dosis como monoterapia o en terapia de combinación a un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, reduce la activación del complemento en el individuo en al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 15 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, o más del 90 %, en comparación con la activación del complemento en el individuo antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s.

En algunas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-C1s humanizado mejora la función cognitiva en el individuo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s objeto, cuando se administra en una o más dosis como monoterapia o en terapia de combinación a un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, mejora la función cognitiva en el individuo en al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 15 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, o más del 90 %, en comparación con la función cognitiva en el individuo antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s.

En algunas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-C1s humanizado reduce la tasa de disminución en la función cognitiva en el individuo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s objeto, cuando se administra en una o más dosis como monoterapia o en terapia de combinación a un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, reduce la tasa de disminución de la función cognitiva en el individuo en al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 15 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, o más del 90 %, en comparación con la función cognitiva en el individuo antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s.

al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, o más del 90 %, en comparación con la tasa de disminución en la función cognitiva en el individuo antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s.

5 En algunas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-C1s humanizado a un individuo reduce la pérdida de neuronas en el individuo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s objeto, cuando se administra en una o más dosis como monoterapia o en terapia de combinación a un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, reduce la pérdida de neuronas en el individuo en al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 15 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, o más del 90 %, en comparación con la pérdida de neuronas en el individuo antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s.

15 En algunas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-C1s humanizado a un individuo reduce la activación de células de la glía en el individuo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s objeto, cuando se administra en una o más dosis como monoterapia o en terapia de combinación a un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, reduce la activación glial en el individuo en al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 15 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, o más del 90 %, en comparación con la activación de células de la glía en el individuo antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s. En algunas realizaciones, las células de la glía son astrocitos o microglía.

25 En algunas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-C1s humanizado a un individuo reduce la infiltración de linfocitos en el individuo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s objeto, cuando se administra en una o más dosis como monoterapia o en terapia de combinación a un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, reduce la infiltración de linfocitos en el individuo en al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 15 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, o más del 90 %, en comparación con la infiltración de linfocitos en el individuo antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s.

35 En algunas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-C1s humanizado a un individuo reduce la infiltración de macrófagos en el individuo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, cuando se administra en una o más dosis como monoterapia o en terapia de combinación a un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, reduce la infiltración de macrófagos en el individuo en al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 15 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, o más del 90 %, en comparación con la infiltración de macrófagos en el individuo antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s.

45 En algunas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-C1s humanizado a un individuo reduce la deposición de anticuerpos en el individuo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, cuando se administra en una o más dosis como monoterapia o en terapia de combinación a un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, reduce la deposición de anticuerpos en el individuo en al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 15 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, o más del 90 %, en comparación con la deposición de anticuerpos en el individuo antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s.

50 En algunas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-C1s a un individuo reduce la producción de anafilotoxina (por ejemplo, C3a, C4a, C5a) en un individuo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención, cuando se administra en una o más dosis como monoterapia o en terapia de combinación a un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, reduce la producción de anafilotoxina en el individuo en al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 15 %, al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 25 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 90 %, o más del 90 %, en comparación con el nivel de producción de anafilotoxina en el individuo antes del tratamiento con el anticuerpo anti-C1s.

5 La presente invención proporciona un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención o una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable para el uso para tratar un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención para el uso para tratar un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona el uso de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable para tratar un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento.

10 La presente invención proporciona un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención para el uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento.

15 La presente invención proporciona un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención o una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable para el uso en terapia médica. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención para el uso en terapia médica. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable para el uso en terapia médica.

20 La presente invención proporciona un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención o una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable para tratar un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención para tratar un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable para tratar un individuo que tiene una enfermedad o trastorno mediado por el complemento.

25 La presente invención proporciona un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención o una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable para modular la activación del complemento. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención para modular la activación del complemento. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable para modular la activación del complemento. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-C1s inhibe la activación del complemento.

30

**EJEMPLOS**

Los siguientes ejemplos se exponen de manera que se proporcione a los expertos habituales en la técnica una divulgación y descripción completa de cómo realizar y usar la presente invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención ni pretenden representar que los experimentos que siguen son todos o los únicos experimentos realizados. Se han hecho esfuerzos para garantizar la exactitud con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero se deben tener en cuenta algunos errores experimentales y desviaciones. A menos que se indique lo contrario, partes son partes en peso, peso molecular es peso molecular medio ponderal, temperatura es en grados Celsius, y presión es atmosférica o próxima. Se pueden usar abreviaturas convencionales, por ejemplo, pb, par(es) de bases; kb, kilobase(s); pl, picolitro(s); s, segundo(s); min, minuto(s); h, hora(s); aa, aminoácido(s); kb, kilobase(s); pb, par(es) de bases; nt, nucleótido(s); i.m., (vía) intramuscular; i.p., (vía) intraperitoneal; s.c., (vía) subcutánea; y similares.

Ejemplo 1: Variantes humanizadas de TNT005

Se generaron variantes humanizadas de TNT005. También se proporcionan secuencias de aminoácidos de los dominios VH de la cadena pesada de las variantes humanizadas 1-5; secuencias de nucleótidos que codifican el dominio VH de la cadena pesada de las variantes humanizadas. Se muestran secuencias de aminoácidos del dominio VL de la cadena ligera de variantes humanizadas 1, 2 y 5, y secuencias de nucleótidos que codifican el dominio VL de la cadena ligera de las variantes humanizadas, en las FIG. 6-8. Diferencias de aminoácidos con respecto a la secuencia de aminoácidos de TNT005 (VL SEQ ID NO:7; VH SEQ ID NO:8) se resumen en las Tablas 2 y 3 (FIG. 9 y FIG. 10, respectivamente).

Los códigos unilíteros de aminoácidos son del siguiente modo (con los códigos trilíteros de aminoácidos entre paréntesis):

- G - Glicina (Gly)
- P - Prolina (Pro)
- A - Alanina (Ala)
- V - Valina (Val)
- L - Leucina (Leu)
- I - Isoleucina (Ile)
- M - Metionina (Met)
- C - Cisteína (Cys)
- F - Fenilalanina (Phe)
- Y - Tirosina (Tyr)
- W - Triptófano (Trp)
- H - Histidina (His)
- K - Lisina (Lys)
- R - Arginina (Arg)
- Q - Glutamina (Gln)
- N - Asparagina (Asn)
- E - Ácido glutámico (Glu)
- D - Ácido aspártico (Asp)
- S - Serina (Ser)
- T - Treonina (Thr)

Ejemplo 2: Caracterización de variantes humanizadas de TNT005

Las características de unión de las variantes humanizadas de TNT005 se proporcionan en las Tablas 4 y 5 (FIG. 11 y FIG. 12, respectivamente). Las afinidades de unión relativas para diversas variantes humanizadas de TNT005 para C1s activado se proporcionan en la Tabla 4 (primera columna de datos), que se presenta en la FIG. 11.

Se produjeron 15 combinaciones (variante de VH 1 + variante de Vk 1; variante de VH 1 + variante de Vk 2; variante de VH 1 + variante de Vk 5; variante de VH 2 + variante de Vk 1; variante de VH 2 + variante de Vk 2; variante de VH 2 + variante de Vk 5; variante de VH 3 + variante de Vk 1; variante de VH 3 + variante de Vk 2; variante de VH 3 + variante de Vk 5; variante de VH 4 + variante de Vk 1; variante de VH 4 + variante de Vk 2; variante de VH 4 + variante de Vk 5; variante de VH 5 + variante de Vk 1; variante de VH 5 + variante de Vk 2; variante de VH 5 + variante de Vk 5). Cada variante humanizada se probó para su capacidad para competir con TNT005 biotinilado para unirse a C1s activo. Los datos se muestran en la FIG. 11, segunda columna de datos.

Cada variante humanizada se probó en un ensayo comercialmente disponible que mide la activación de la vía clásica del complemento (CP). Los resultados se muestran en la FIG. 11, tercera columna de datos. Los datos muestran que las 15 variantes humanizadas inhiben la activación de CP con una  $CI_{50}$  similar a la de TNT005.

La caracterización cinética de la afinidad de unión se llevó a cabo en 8 de las variantes humanizadas de TNT005. Los datos se representan en la Tabla 5, que se presenta en la FIG. 12.

### Ejemplo 3: Estudios *in vivo* en macacos cangrejeros

Para evaluar las propiedades farmacocinéticas (FC) y farmacodinámicas (FD) de TNT005 humanizado, se realizaron estudios de dosis única y dosis repetidas de TNT005 humanizado en macacos cangrejeros (*Macaca fascicularis*). Además, para comparar la biodisponibilidad de TNT005 humanizado por diversas vías de administración, la variante humanizada de TNT005 se administró o por inyección intravascular (IV) o subcutánea (SC). Tras la administración de TNT005 humanizado, se tomaron muestras de plasma y suero en momentos de tiempo designados para determinar las concentraciones circulantes (FC) de TNT005 humanizado, y para evaluar la inhibición de la vía clásica del complemento (FD) por TNT005 humanizado.

Todos los animales del estudio fueron hembras, entre 2,4-3,9 kg de peso corporal, y edades comprendidas entre 3-5 años. Además, ningún animal había recibido dosis farmacéutica previa.

El estudio consistió en dos partes:

1) Fase 1 – un estudio de dosis única que compara la FC/FD de TNT005 humanizado en grupos de control de vehículo (sin fármaco administrado), dosis baja y dosis alta por administración intravenosa (IV), y un grupo de TNT005 humanizado de dosis alta equivalente administrado por vía subcutánea (SC); y

2) Fase 2 – un grupo SC de dosis baja y multidosis (diariamente durante 7 días).

El diseño del estudio de fase 1 consistió en cuatro grupos de animales, de los cuales tres fueron administrados con TNT005 humanizado (n=4 animales/cohorte de dosis), y el cuarto con control de vehículo (solución salina tamponada con fosfato; n=3 animales). A los animales administrados IV se les puso una inyección en bolo en una vena periférica, mientras que la inyección SC se administró en la región interescapular de la espalda. El grupo 1 se designó el grupo de control, y se administró con el vehículo IV. El grupo 2 y grupo 3 fueron administrados con una dosis única IV de TNT005 humanizado a 10 mg/kg y 45 mg/kg, respectivamente. Finalmente, el grupo 4 se administró con una dosis única SC a 45 mg/kg para comparar directamente la biodisponibilidad SC con el grupo IV correspondiente (Grupo 3). La Tabla 6 resume el diseño del estudio de fase 1.

**Tabla 6**

Grupo	Producto experimental	Vía	Nivel de dosis (mg/kg)	Concentración de dosis (mg/ml)	Volumen de dosis (ml/kg)	Número de animales hembra
1	Vehículo	IV	0	0	4,5	3
2	TNT005 humanizado	IV	10	2,2	4,5	4
3	TNT005 humanizado	IV	45	10	4,5	4
4	TNT005 humanizado	SC	45	10	4,5	4

Se recogió sangre completa en tubos  $K_2EDTA$  y tubos separadores de suero para el procesamiento de plasma y suero, respectivamente, y se almacenó inmediatamente a  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Las recogidas de muestra ocurrieron antes y después de la administración de TNT005 humanizado o control de vehículo según el programa descrito en la Tabla 7.

Tabla 7

Grupo	Extracción de sangres (h después de la dosis)	Volumen de sangre	Tubo de recogida / Aditivo / Procesamiento	Alícuotas/ Almacenamiento
Todos	Predosis, 0,25, 0,5, 1, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 240, 336, 432 y 504 (día 22) horas después de la dosis. Además, las muestras se recogieron diariamente en los días 23 a 43 después de la dosis	Al menos 1,3 ml	SST (~ 0,7 ml) / Centrifugar por SOP	1 × 350 µl -15 a -25 °C
			K <sub>2</sub> EDTA (~ 0,6 ml) sobre hielo / Centrifugar a 2 a 8 °C	1 × 300 µl -15 a -25 °C

5 El estudio de fase 2 se diseñó para evaluar la relación FC/FD de TNT005 humanizado a dosis bajas repetidas administrado SC. Los animales de la fase 2 fueron asignados del grupo de control de fase 1 (n=3), además de un animal del grupo de dosis baja IV (grupo 1). Los animales en la fase 2 fueron administrados diariamente con 4 mg/kg de TNT005 humanizado SC durante 7 días. Los animales de la fase 2 fueron administrados 57 días después de la dosis de la fase 1. La Tabla 8 resume el diseño de fase 2 del estudio.

Tabla 8

Grupo	Producto experimental	Vía	Nivel de dosis (mg/kg)	Concentración de dosis (mg/ml)	Volumen de dosis (ml/kg)	Número de animales hembra
1	TNT005 humanizado	SC	4	0,9	4,5	4

10 Se recogió sangre completa en tubos K<sub>2</sub>EDTA y tubos separadores de suero para el procesamiento de plasma y suero, respectivamente, y se almacenó inmediatamente a -15 °C a -25 °C. Las recogidas de muestra ocurrieron antes y después de la administración de TNT005 humanizado según el programa descrito en la Tabla 9.

Tabla 9 - Programa de extracciones de sangre completa de la fase 2

Grupo	Extracción de sangres (h después de la dosis)	Volumen de sangre	Tubo de recogida / Aditivo / Procesamiento	Alícuotas/ Almacenamiento
1	Día 1: Predosis, y 1,5, 2, 3, 4, 6, 10, 12 y 24 horas después de la dosis (predosis en el día 2) Días 3 a 6: Predosis Día 7: Predosis, y 1,5, 4, 8, 12, 24 y 48 horas después de la dosis	Al menos 1,3 ml	SST (~ 0,7 ml) / Centrifugar por SOP	1 × 350 µl -15 a -25 °C
			K <sub>2</sub> EDTA (~ 0,6 ml) sobre hielo / Centrifugar a 2 a 8 °C	1 × 300 µl -15 a -25 °C

## 15 RESULTADOS

### Farmacocinética y farmacodinámica de la fase 1

Para evaluar el perfil farmacocinético de TNT005 humanizado en la fase 1, se diluyeron muestras de plasma tomadas en los momentos de tiempo designados en la Tabla 7 y se sometieron en un ELISA para cuantificar las concentraciones plasmáticas de TNT005 humanizado. Brevemente, se añadieron muestras de plasma diluido a una placa de 96 pocillos recubierta previamente con C1s activado. Tras la incubación de las muestras de plasma y el posterior lavado, se añadió un anticuerpo de detección conjugado con peroxidasa de rábano picante específico para IgG humana para detectar TNT005 humanizado unido a C1s. Finalmente, se añadió sustrato de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB) para iniciar una reacción colorimétrica que se leyó en un espectrofotómetro. Interpolando de una curva patrón de TNT005 humanizado realizada en paralelo con las muestras de plasma, se determinaron las concentraciones plasmáticas de TNT005 humanizado para todas las muestras. Los resultados del análisis farmacocinético de la fase 1 del estudio se muestran en la FIG. 14 (día 1 - 43) y la FIG. 15 (día 32-43). Después de la administración IV, los perfiles FC plasmáticos de TNT005 humanizado presentaron una C<sub>máx</sub> normalmente alta, seguido por depuración que era dependiente de la dosis. La administración SC produjo una fase de absorción más lenta, dando como resultado una C<sub>máx</sub> más baja

global que era retardada en comparación con la cohorte de dosis IV equivalente. La tasa de depuración de TNT005 humanizado en los grupos de dosis IV y SC de 45 mg/kg fue comparable desde las 72 horas hasta el fin del estudio.

La FIG. 14 representa un perfil farmacocinético de TNT005 humanizado en macacos cangrejeros administrados en la fase 1 (día 1 - día 43). Los grupos de dosis recibieron vehículo; 10 mg/kg (MPK) de TNT005 humanizado IV; 45 MPK de TNT005 humanizado IV; o 45 MPK de TNT005 humanizado SC. Las concentraciones plasmáticas promedio de TNT005 humanizado para cada grupo de dosis (n = 4 animales/cohorte de TNT005 humanizado) se representan frente al tiempo después de la dosis.

La FIG. 15 representa perfiles farmacocinéticos de TNT005 humanizado en macacos cangrejeros administrados en la fase 1 (día 32 - día 43). Los grupos de dosis fueron como para la FIG. 14. Las concentraciones plasmáticas promedio de TNT005 humanizado para cada grupo de dosis (n = 4 animales/cohorte de TNT005 humanizado) se representan frente al tiempo después de la dosis.

Los efectos farmacodinámicos de TNT005 humanizado se evaluaron usando el kit de la vía clásica del complemento Wieslab®. El kit Wieslab® está comercialmente disponible, e implica el uso de un ensayo de inmunoadsorción (ELISA) que se diseña para evaluar la intensidad de la actividad de la vía clásica del complemento en muestras de suero activando la vía clásica de la muestra *ex vivo* y midiendo la generación *ex vivo* del producto de división final de la vía, C5b-9. Las muestras se ensayaron según las instrucciones del fabricante. Brevemente, se diluyeron muestras de suero de los monos, recogidas en los momentos de tiempo mostrados en la Tabla 7, y se añadieron a los pocillos de la placa de 96 pocillos proporcionada. Tras la incubación, se añadió un anticuerpo de detección específico para el producto de división final de la vía clásica, C5b-9, y la reacción colorimétrica se midió en un espectrofotómetro. Se compararon todas las muestras para un mono individual y se normalizaron para la muestra predosis del mismo mono (predosis = 100 % de actividad). Los resultados de la lectura farmacodinámica en los grupos de fase 1 se muestran en la FIG. 16. La administración IV de TNT005 humanizado produjo inhibición de casi completa a completa de la vía clásica en ambos grupos de dosis inmediatamente después de la administración. La recuperación de actividad de la vía clásica fue gradual y dependiente de la dosis, recuperándose los animales en las cohortes de dosis de 45 mg/kg más lentamente que la cohorte de 10 mg/kg. Los grupos IV y SC administrados con 45 mg/kg mostraron tiempos de recuperación muy similares para la actividad de la vía, de acuerdo con perfiles farmacocinéticos similares de TNT005 humanizado para aquellos grupos (FIG. 14).

La FIG. 16 representa la actividad de la vía clásica (lectura FD) de muestras de suero de monos cangrejeros administrados en la fase 1 (día 1 - día 43). Los grupos de dosis recibieron vehículo; 10 mg/kg (MPK) de TNT005 humanizado IV; 45 MPK de TNT005 humanizado IV; o 45 MPK de TNT005 humanizado SC. Se representa la actividad de la vía clásica para cada grupo de dosis (normalizado a la actividad predosis; n = 4 animales/grupo de TNT005 humanizado) frente al tiempo después de la dosis.

#### Farmacocinética (FC) y farmacodinámica (FD) de la fase 2

Se ensayaron la farmacocinética y la farmacodinámica de TNT005 humanizado en la fase 2 del mismo modo que se describe en la fase 1. Los resultados de los análisis farmacocinéticos y farmacodinámicos de la fase 2 del estudio se muestran en la FIG. 17. La administración SC de TNT005 humanizado a dosis baja (4 mg/kg) produjo una fase de absorción lenta en las primeras 24 horas desde la administración (FIG. 17, representación roja, eje y derecho). Simultáneamente al aumento en las concentraciones de TNT005 humanizado plasmático, disminuyó la actividad de la vía clásica en suero (FIG. 17, representación azul, eje y izquierdo). La dosis repetida diaria de 4 mg/kg produjo un aumento gradual en TNT005 humanizado plasmático y redujo aún más la actividad de la vía clásica en suero al 10 % de niveles predosis en el día 7 (es decir, - 90 % de la inhibición de la vía clásica).

La FIG. 17 representa un perfil FC/FD de TNT005 humanizado en monos cangrejeros administrados en la fase 2 (administración diaria SC de 4 mg/kg durante 7 días). Se representaron las concentraciones plasmáticas promedio de TNT005 humanizado (eje y derecho) y la actividad promedio de la vía clásica en suero (eje y izquierdo) frente al tiempo para la fase 2 (n=4 animales).

**REIVINDICACIONES**

1. Un anticuerpo humanizado que se une específicamente al componente del complemento C1s, en donde el anticuerpo comprende una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 14 y una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 22.
- 5 2. El anticuerpo humanizado de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo humanizado se selecciona del grupo que consiste en un fragmento Fab, un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, un scFv y un Fv.
3. El anticuerpo humanizado de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo humanizado comprende una región constante de la cadena pesada del isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.
4. Una composición que comprende:
  - 10 a) el anticuerpo humanizado de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3; y
  - b) un excipiente farmacéuticamente aceptable.
5. La composición de la reivindicación 4, en donde la composición comprende uno o más de un agente de tonicidad, un agente de suspensión, un agente emulsionante, un estabilizador, un conservante, un lioprotector, un tensioactivo y un azúcar.
- 15 6. La composición de la reivindicación 4 o 5, que se formula para administración intravenosa, intramuscular, intratecal o subcutánea.
7. El anticuerpo humanizado de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6 para el uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por el complemento.
8. El anticuerpo humanizado para el uso de la reivindicación 7 o la composición para el uso de la reivindicación 7, en donde el nivel de un producto de escisión del componente del complemento se reduce en un individuo.
- 20 9. El anticuerpo humanizado para el uso de la reivindicación 8 o la composición para el uso de la reivindicación 8, en donde el producto de escisión del componente del complemento es un producto de escisión C4.
10. El anticuerpo humanizado para el uso de la reivindicación 8 o la composición para el uso de la reivindicación 8, en donde el producto de escisión del componente del complemento es un producto de escisión C2.
- 25 11. El anticuerpo humanizado para el uso de la reivindicación 8 o la composición para el uso de la reivindicación 8, en donde el producto de escisión del componente del complemento es un producto de escisión C3.
12. El anticuerpo humanizado para el uso de la reivindicación 7 o la composición para el uso de la reivindicación 7, en donde el trastorno mediado por el complemento es un trastorno aloinmunitario.
13. El anticuerpo humanizado para el uso de la reivindicación 7 o la composición para el uso de la reivindicación 7, en donde el trastorno mediado por el complemento es un trastorno autoinmunitario.
- 30 14. El anticuerpo humanizado para el uso de la reivindicación 7 o la composición para el uso de la reivindicación 7, en donde la enfermedad mediada por el complemento es la enfermedad de aglutininas frías.
15. El anticuerpo humanizado para el uso de la reivindicación 7 o la composición para el uso de la reivindicación 7, en donde el trastorno mediado por el complemento es púrpura inmunotrombocitopénica (PIT).
- 35 16. El anticuerpo humanizado para el uso de la reivindicación 7 o la composición para el uso de la reivindicación 7, en donde el trastorno mediado por el complemento es pénfigo ampoloso.
17. El anticuerpo humanizado para el uso de la reivindicación 7 o la composición para el uso de la reivindicación 7, en donde el anticuerpo humanizado o composición se va a administrar por vía intravenosa, por vía intramuscular, por vía intratecal o por vía subcutánea.

40

**Figura 1**  
**Variante de VH 1**

```

10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
SAGGTTGAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGCCTTAAGAAGCCASSSSCCTCAGTCAAGTIGTCTGCACAGCCTTCGTGGCTTTAACATTAAGAGCCGACTATA
E V Q L V Q S G A E L K R P G A S V K L S C T A S G F N I K D D Y
10
110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
TACACTGGGTGAAGCCAGGCCCTGGACAGGGCCCTGGAGTGGATTGGAGGGATTCCTGGGATGGGATGGTCAATAATATGCCCCGGAAGCTTCCAAAGTCAA
I H W V K Q A P G Q A P G Q G L E W I G R I D P A D G R T K Y A P K F Q V K
40
210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
GSCCACTATAACTGCAGACACATCCACCACACACAGCCCTACCTGCAGCTCAGCAGCCCTGACATCTGAGGACACTGCCGGTCTATTACTGTGCTAGATATGGT
A T I T A D T S T N T A Y L Q L S S L T S E D T A V Y Y C A R Y G
70
310     320     330     340     350
TADGGGAGGGAGGTTCTTTGACTACTGGSSCCAAAGCCACCCTGTCCACAGTCTCCTCA
Y G R E V P D Y W G Q G T T V Y S S
100 a b
110     113

```

Definiciones de CDR y numeración de secuencias de proteínas según Kabat. Las secuencias de nucleótidos y proteínas de CDR están resaltadas en rojo.

**Figura 2**  
**Variante de VH 2**

```

10      20      30      40      50      60      70      80      90      100
GAGTTCAGGTGGTSCAGTCTGGGGCTGAGSTGAAGAAGCCAGGGCCCTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGCTTCTGGCTTTAACATTAAGAGACGACTATA
E V Q L V Q S G A E V K K K P G A S V K L S C T A S G F N I K Q D Y
10
110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
TACACTGGTGAAGCAGGCCCTGGACAGGGCCCTGGAGTGGATTGGAAAGGATTCATCTCTGGCATGCTCATACTACTAAATATGCCCCGAAAGTTCACAACTCAA
I H W V K Q A P G Q G L E W I G R I D P A Q G H T K Y A P K F Q V K
40
210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
GSECACTATAACTSCAGACACATCCAGCAACACACAGCCCTACCTGGAGCTCAGCAGCCCTGAGATCTGAGGACACTGCCGCTATTACTGTGCTAGATATGCT
A T I T A D T S T N T A Y L E L S S L R S E D T A V Y Y C A R Y Q
70
310     320     330     340     350
TACGGGAGGGGAGGTCTTTTACTACTGGGGCCCAAGSCACCACCTGTTCACAGTCTGCTCA
Y G R E V F D Y W G Q G T T V T V S S
100 a b 110 113

```

Definiciones de CDR y numeración de secuencias de proteínas según Kabat. Las secuencias de nucleótidos y proteínas de CDR están resaltadas en rojo.



**Figura 4**  
**Variante de VH 4**

```

10      20      30      40      50      60      70      80      90      100
CAGGTTCAAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTCAGTGAAGAACCCAGGGCCCTCAGTCAAGGTCCTCCGACAGCTTCTGGCTTAAACATTAAAGACGAGATATA
Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C T A S G F N I K D D Y
10
110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
TAAACTGSETGGCCAGGCCCTGGACAGGGCTGGAGTGGATTGGAAAGGATTTGATCTCCCGATGGTCCATACTAAATATGCCCCAAGTTGCCAAGTCAA
I H W Y R Q A P G Q G L E W I G R I D P A D Q H Y K Y A P K F Q V K
40      50      52 a
210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
AGTCACTATAACTGCAGACACATCCACCAGCACAGCCCTACATGGAGTCCAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACTGCCGCTCTATTACTGTCTAGATATGGT
V T I T A D T S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R Y G
70      80      82 a b c
310     320     330     340     350
TADGGAGCCGACGCTTTTCACTACTGGGGCCCAAGGCACCCACCTGTCACAGTCTCCICA
Y G R E V F D Y W G Q G T T V T V S S
100 a b      110      113

```

Definiciones de CDR y numeración de secuencias de proteínas según Kabat. Las secuencias de nucleótidos y proteínas de CDR están resaltadas en rojo.

**Figura 5**  
**Variante de VH 5**

```

10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
CAGGTTGAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCAGGSCCTCAGTCAAGGTCCTGCGCAGCCTTCTGGCCTTTAACATTAAGAGCGACTATA
Q V Q L V Q S G A E V K K K P G A S V K V S C A A S G F N I K D D Y
10

110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
TACACTGGGTGCGCCAGGCCCCCTGGACAGSCTGGAGTGGATTGGAGAGGATTGATCGCTGGGATGGTCATACTAAATATGCCCGAAGSTGCCAAGTCAA
I W V R Q A P G Q G L E W I G R I D P A D G H T K Y A P K F Q V K
40      50      52 a    60

210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
AGTCACTATAACTGCAGACACATCCACCAGCACAGCCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGAGATCTGAGCACACTGCCCGTCTATTACTGTGCTAGATATGGY
V T I T A D T S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R Y G
70      80      82 a b c  90

310     320     330     340     350
TACGGGAGCGGAGGTCCTTTCAGCTACTGGGCCCCAAGGCACCACTGTCCACAGTCTCCTCA
Y G R E V F D Y W G Q G T T V T V S S
100 a b    110    113

```

Definiciones de CDR y numeración de secuencias de proteínas según Kabat. Las secuencias de nucleótidos y proteínas de CDR están resaltadas en rojo.

**Figura 6**  
**Variante de VK 1**

```

10      20      30      40      50      60      70      80      90      100
GACATTGTSBTGACCCAAATCICAGACTCTTTGGCTGTCTCTCSGGGAGAGGGCCACCACATCTCCTGCAAGSSCCAGCCCAAGAGTGTTCATTAATGATGGTGG
D I V L T Q S P D S L A V S L G E R A T I S C K A S Q S Y Q Y D G
10
110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
ATAGTTATATGAACCTGGTACCAACAACAAAACAGSACAGCCACCCAAAATCCCTCATTATATGATCCATCCAAATTTGGAAATGTGGCATCCCAAGGTTTAG
D S Y M N W Y Q Q K T G Q P P K I L I Y D A S N L E S G I P A R F S
30
210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
TGGCAGTGGGTCTSSGACAGACTTCACCCTCACCATCAGCASCCTGGAGSAGGAGGATTTTGCATCTATTACTGTGAGCAAAAGTAAATGAAAGCCCGTGG
G S G S G T D F T L T I S S L E E D F A I Y C D Q S N E D P W
70
310     320     330
ACGTTCCGGTSSGAGCCACCAAGGTGGAAATCAAA
Y F G G G T K V E I K
100 a

```

Definiciones de CDR y numeración de secuencias de proteínas según Kabat. Las secuencias de nucleótidos y proteínas de CDR están resaltadas en rojo.

**Figura 7**  
**Variante de VK 2**

```

10      20      30      40      50      60      70      80      90      100
GACATTGTCGACCCCAATCTCCAGACTCTTTGGCTGTGTCTCTCGGGGAGAGGGCCACCCATCTCCTGCCAAGGGCCAGCCCAAGCTGTTGATTATGATGGTGG
D I V L T Q S P D S L A V S L G E R A T I S C K A S Q S V D Y D G
10
110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
ATAGTTATATGAACTGGTACCAACAAAACCCAGGACAGCCACCCAAATCCTCATTATCATGTCATGCCAATTTGGAAATCTGGCATCCAGCCAGGTTTAG
D S Y M N W Y Q K P G Q P K I L I Y D A S N L E S G I P A R F S
30      40      50
210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
TGCCAGTGGTCTGGGACAGACTTCACCCCTCACCATCAGCCAGCCYGGAGCCIGAGGATTTTGGCAATCTATTACTGTCCAGCAAAATATGAGACCCCGTGG
G S G S G T D F T L T I S S L E P E D F A I Y Y C Q Q S N E D P W
70      80      90
310     320     330
AGGTTCCGGTGGAGGCCACCAAGGTGGAAATCAAA
Y F G G G T K V E I K
100     105     a

```

Definiciones de CDR y numeración de secuencias de proteínas según Kabat. Las secuencias de nucleótidos y proteínas de CDR están resaltadas en rojo.

**Figura 8**  
**Variante de VK 5**

```

10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
GACATTGCTGACCCAAATCTCCAGACTCTTTGGCTGTGTCTCTCGSSGAGAGSSCCACCATCTCCTCCAGSSCCAGCCCAAGCTGTTGATTATATGATGGTG
D I V L T Q S P D S L A V S L G E R A T I S C K A S Q S V D Y D G
10
110    120    130    140    150    160    170    180    190    200
ATAGTTATGAACTGGTACCAACAAACCCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATTATGATGCAATCCCAATTTGGCAATCTGSCATCCCAGCCAGBITTAG
D S Y M N W Y Q Q K P G Q P K L L I Y D A S N L E S G I P A R F S
30      40      50      60      70      80      90      100
TGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCCTCACCCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAGGATTTGGAGTCTATTACTGTCCAGCAAAAGTAAATSAAGACCCGCTGG
G S G S G T D F T L T I S S L E P E D F A V Y Y C Q Q S N E D P W
70      80
310    320    330
ACGTTCCGGTGGAGGCCACCAAGGTGGAAATCAAA
T F G G G T K V E I K
100      106 a

```

Definiciones de CDR y numeración de secuencias de proteínas según Kabat. Las secuencias de nucleótidos y proteínas de CDR están resaltadas en rojo.

Figura 9 - Tabla 2: Variantes de VH

Posición de aminoácidos	TNT005 (anticuerpo parental)	Variante de VH 1	Variante de VH 2	Variante de VH 3	Variante de VH 4	Variante de VH 5
1	E	E	E	Q	Q	Q
5	Q	V	V	V	V	V
11	L	L	V	V	V	V
12	V	K	K	K	K	K
13	R	K	K	K	K	K
20	L	L	L	L	V	V
23	T	T	T	T	T	A
38	K	K	K	K	R	R
40	R	A	A	A	A	A
42	E	G	G	G	G	G
67	A	A	A	V	V	V
75	S	T	T	T	T	T
76	N	N	N	S	S	S
80	L	L	L	L	M	M
81	Q	Q	E	E	E	E
83	T	T	R	R	R	R
109	L	V	V	V	V	V

Figura 10

Tabla 3: Variantes de VK

Posición de aminoácidos	TNT005 (anticuerpo parental)	Variante de VK 1	Variante de VK 2	Variante de VK 5
9	A	D	D	D
17	Q	E	E	E
40	T	T	P	P
46	I	I	I	L
74	N	T	T	T
76	H	S	S	S
77	P	S	S	S
78	V	L	L	L
80	E	E	P	P
83	A	F	F	F
85	I	I	I	V
104	L	V	V	V

# Figura 11

## Tabla 4

anticuerpo	Unión directa		Unión por competición		Inhibición de la vía clásica	
	Ab a aC1s	CE50 (M)	con Biot-005 50 pM	CI50 (M)	CI50 (M)	CI50 (M)
TNT005.001		5,586E-11		3,952E-11		1,061E-09
biotina-TNT005.001		8,28E-11	No probado		No probado	
VH1/Vk1 humanizado		2,007E-10		1,238E-10		1,2E-09
VH1/Vk2 humanizado		8,797E-11		5,566E-11		1,137E-09
VH1/Vk5 humanizado		1,074E-10		1,288E-10		1,257E-09
VH2/Vk1 humanizado		1,374E-10		1,44E-10		1,234E-09
VH2/Vk2 humanizado		1,335E-10		1,576E-10		1,259E-09
VH2/Vk5 humanizado		1,239E-10		1,678E-10		1,272E-09
VH3/Vk1 humanizado		1,68E-10		1,79E-10		1,27E-09
VH3/Vk2 humanizado		1,63E-10		1,83E-10		1,26E-09
VH3/Vk5 humanizado		1,38E-10		1,58E-10		1,38E-09
VH4/Vk1 humanizado		1,52E-10		1,52E-10		1,35E-09
VH4/Vk2 humanizado		1,19E-10		1,58E-10		1,31E-09
VH4/Vk5 humanizado		2,05E-10		1,56E-10		1,54E-09
VH5/Vk1 humanizado		1,13E-10		4,49E-11		1,06E-09
VH5/Vk2 humanizado		1,64E-10		1,48E-10		1,31E-09
VH5/Vk5 humanizado		1,65E-10		1,37E-10		1,33E-09

# Figura 12

## Tabla 5

Variante de TNT005 humanizado	$K_D$ (M)	$K_{asoc}$ (1/Ms)	$k_{dis}$ (1/s)	$R^2$
VH1/Vk1	2,277E-10	8,641E+05	1,967E-04	0,996
VH1/Vk2	2,078E-10	8,177E+05	1,699E-04	0,996
VH1/Vk5	2,169E-10	7,763E+05	1,684E-04	0,996
VH2/Vk1	2,508E-10	8,294E+05	2,080E-04	0,996
VH2/Vk2	2,059E-10	8,354E+05	1,720E-04	0,997
VH2/Vk5	2,080E-10	7,979E+05	1,660E-04	0,996
VH3/Vk2	5,850E-10	8,379E+05	4,902E-04	0,997
VH5/Vk1	4,572E-10	1,030E+06	4,710E-04	0,996

**Figura 13**

EPTMYGELLSPNYPOAYPSEVEKSWDIEVPEGYGIHLLYFTHLDIELSENCAYSVQIISG  
 DTEGRLCGQRSSNPHSPIVEEFQVPYNKLQVIFKSDFSNEERFTGFAAYYVATDINEC  
 TDFVDVPCSHFCNNEFIGGYFCSPPEYFLHDDMKNCGVNCSGDVFTALIGEIASPNYPKP  
 YPENSRCYQIRLEKGFQVVVTLRREDFDVEAADSAGNCLDSLVEVAGDRQFGPYCGHGF  
 PGPLNIETKSNALDIIFQTDLTGQKKGWKLRHYHGDPMPCPKEDTPNSVWEPAKAKYVFRD  
 VVQITCLDGFVEVGRVGATSFYSTCQSNKGWSNKLKQCPVDCGIFESIENGGKVEDPES  
 TLFGSVIRYTCEEPIYYMENGSGGEYHCAGNGSWVNEVLGPELPCVPCVGVPREPFEK  
 QRIIGGSDADIKNFPWQVFFDNPWAGGALINEYVVLTAHVVEGNREPTMYVGVSTSVQTS  
 RLAKSKMLTPEHVFIHPGWKLLLEVPEGRTNFDNDIALVRLKDPVKMGPTVSPICLPGTSS  
 DYNLMDGDLGLISGWGRTEKRDRAVRLKAARLEPVAPLRKCKEYKVEKPTADAEAYVFTPN  
 MICAGGEKGMDSCKGDSGGAFAVQDPNDKTKFYAAGLVSWGPPQCGTYGLYTRVKNYVDWI  
 MKTMQENSTPRED (SEQ ID NO:9)

FIG.14

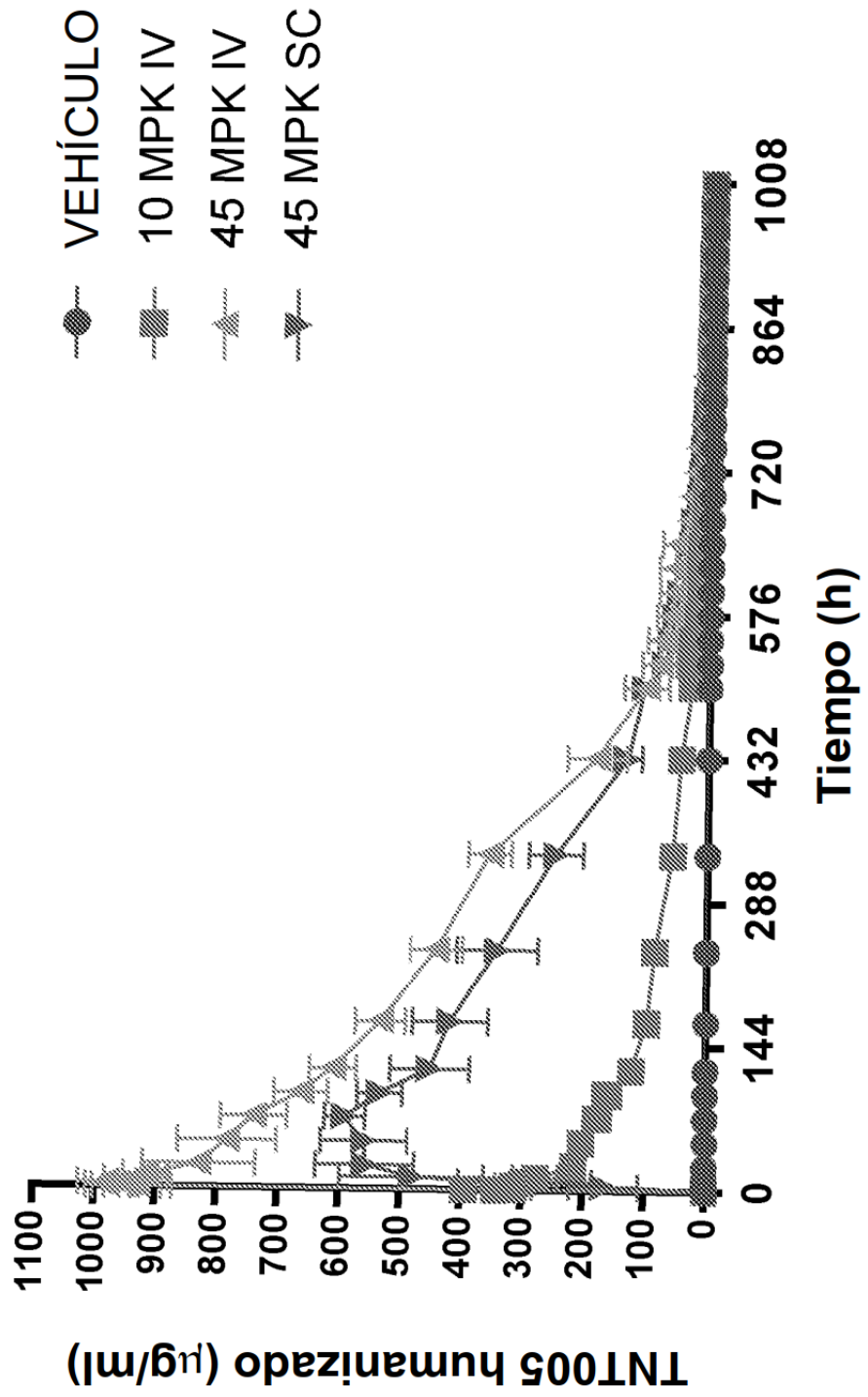


FIG. 15

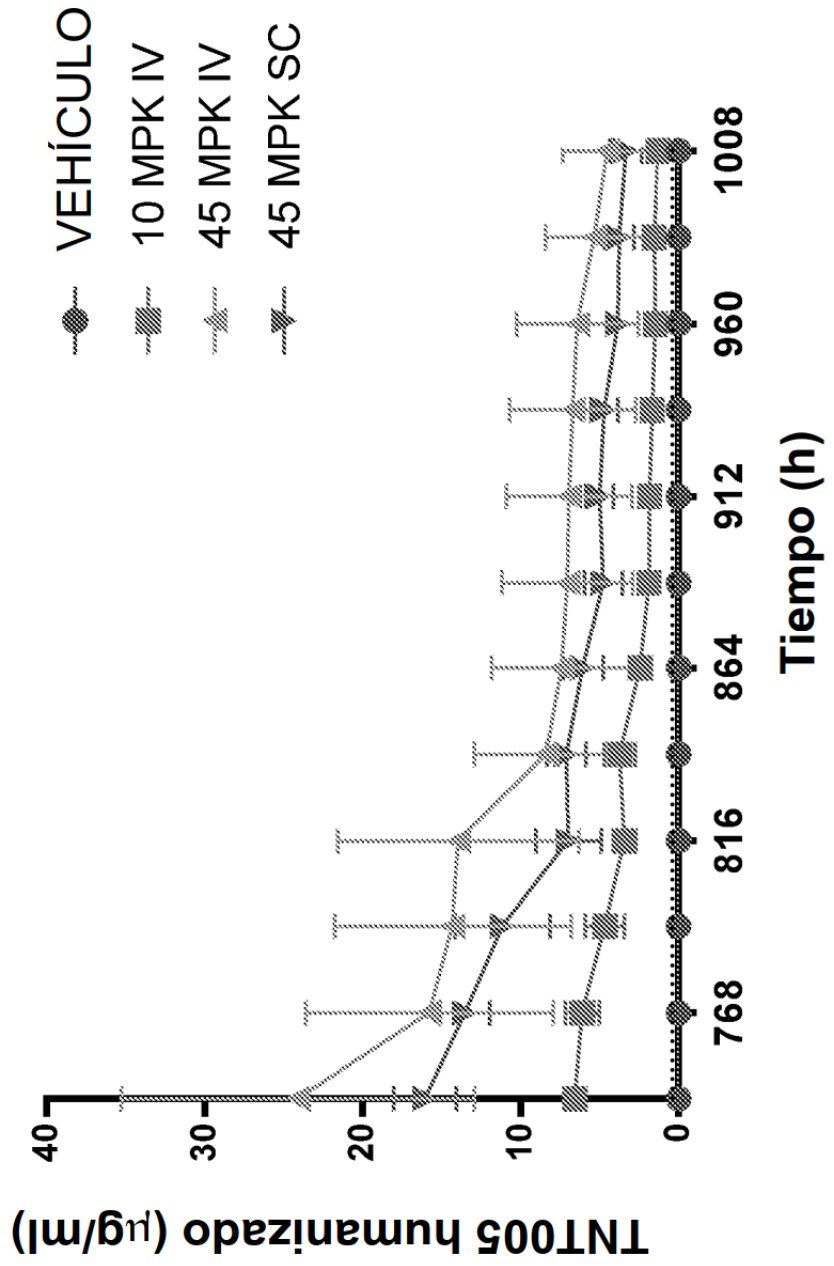




FIG. 17

