

ITALIAN PATENT OFFICE

Document No.

102010901825451A1

Publication Date

20111001

Applicant

MEDESTEA RESEARCH & PRODUCTION S.P.A.

Title

ANTICORPO MONOCLONALE DIRETTO CONTRO LA PROTEINA P17 DI HIV,
ATTO A NEUTRALIZZARE IL LEGAME FRA LA PROTEINA P17 E IL
RECETTORE DELLA PROTEINA P17 (P17R)

Descrizione dell'invenzione industriale dal titolo:
"Anticorpo monoclonale diretto contro la proteina
p17 di HIV, atto a neutralizzare il legame fra la
proteina p17 e il recettore della proteina p17
(p17R)"

Di: MEDESTEA RESEARCH & PRODUCTION S.p.A., naziona-
lità italiana, via Ribes 5, Colletterto Giacosa
10010, Torino, Italia.

Inventori designati: CARUSO, Arnaldo; MERIZZI, Giu-
lia Federica; SOLETTI, Antonio

Depositata il: 31 Marzo 2010

* * *

DESCRIZIONE

La presente invenzione riguarda un anticorpo monoclonale diretto contro la proteina p17 di HIV, detto anticorpo essendo atto a neutralizzare il legame fra la proteina p17 e il recettore della proteina p17 (p17R) espresso sulla superficie di cellule immunocompetenti.

E' noto che la proteina p17 esercita un ruolo importante nella patogenesi dell'AIDS.

E' altresì noto che p17 rappresenta il bersaglio di anticorpi neutralizzanti diretti contro HIV-1 e che livelli elevati di anticorpi anti-p17 sono correlati con una più lenta progressione ad

AIDS. Oltre al suo ruolo di supporto della replicazione virale, p17 presenta varie proprietà immunomodulatorie che potrebbero essere rilevanti nel contesto della patogenesi virale. E' infatti stato dimostrato che la p17 aumenta la replicazione di HIV-1 *in vitro* e influenza l'attivazione e lo stato differenziativo, oltre che la capacità proliferativa, delle cellule che costituiscono il bersaglio del virus, quali i linfociti T CD4⁺, le cellule NK, i monociti, le cellule dendritiche plasmacitoidi. La capacità di p17 di sovvertire la funzione fisiologica di varie cellule del sistema immunitario e di incrementare la produzione di molecole proinfiammatorie è molto probabilmente un meccanismo sfruttato dal virus per eludere la risposta immunitaria e, allo stesso tempo, per creare un ambiente più adatto per l'infezione e la replicazione virale. Recentemente è stato inoltre osservato che la proteina p17 viene esportata al di fuori delle cellule infettate e che essa può essere rivelata nel siero di pazienti infettati da HIV-1, permanendo nei linfonodi, anche in pazienti trattati con successo con antiretrovirali e quindi in assenza di replicazione virale. Tali osservazioni fanno ritenere che il meccanismo di azione osservato *in vitro*

sia possibile anche *in vivo*.

Inoltre, in precedenti studi i presenti inventori avevano dimostrato che la proteina p17 esercita la propria attività biologica direttamente, interagendo con un recettore specifico (p17R) espresso sulla superficie di diverse cellule immunocompetenti. I presenti inventori avevano altresì identificato un epitopo nella regione N-terminale di p17 che è coinvolto nel legame con il recettore. La sequenza aminoacidica di tale epitopo è stata identificata ed impiegata per la progettazione di un peptide sintetico di 20 aminoacidi di lunghezza, denominato AT20, rappresentativo della regione funzionale della p17 dell'isolato BH10 di HIV-1 (HIV-1 sottotipo B). Il peptide sintetico AT20 accoppiato con la proteina *Keyhole Limpet Hemocyanin* (KLH) causa lo sviluppo di anticorpi neutralizzanti anti-p17 capaci di bloccare l'interazione p17/p17R e, conseguentemente, la sua attività biologica.

In uno studio successivo i presenti inventori avevano anche dimostrato che l'immunizzazione di animali con la proteina p17 di BH10 intera o con il peptide sintetico AT20-KLH, determina la produzione di sieri neutralizzanti atti a inibire il legame a p17R non soltanto della proteina p17 di BH10 ma an-

che di una serie di varianti africane di tale proteina, rispettivamente identificate come S75X, S85X, S92X e S012X (Fiorentini et al., Vaccine 26 (2008) 4758-4765). Gli anticorpi policlonali presentano tuttavia diversi inconvenienti. Innanzitutto, ogniqualevolta si desidera produrre un anticorpo policlonale è necessario ricorrere all'immunizzazione di animali. In secondo luogo, gli anticorpi policlonali prodotti ad ogni immunizzazione devono essere caratterizzati e verificati sia per le loro proprietà di legame e neutralizzazione sia per le loro caratteristiche di sicurezza.

Tali inconvenienti sono ora stati superati grazie all'anticorpo monoclonale anti-p17 come definito nelle rivendicazioni che seguono, il cui contenuto forma parte integrante dell'insegnamento tecnico della presente descrizione.

L'anticorpo monoclonale anti-p17 che forma oggetto della presente invenzione, e che nel seguito è denominato "anticorpo MBA1", presenta proprietà inaspettate, in quanto - pur essendo un monoclonale- esso è dotato di potere neutralizzante ad ampio spettro in maniera simile ad un policlonale, ma d'altra parte esso non riconosce l'epitopo neutralizzante AT20 riconosciuto invece dai sieri neutra-

lizzanti descritti nel sopra citato riferimento Fiorentini et al., 2008 e da un monoclonale neutralizzante anti-p17 precedentemente descritto e denominato MBS3 (De Francesco et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002 Jul 23;99(15):9972-7).

Date le sue capacità di legame e neutralizzazione del legame fra una pluralità di varianti della proteina p17 di HIV-1 e il recettore di p17R, l'anticorpo monoclonale MBA1 dell'invenzione è particolarmente adatto ad essere impiegato come medicamento per il trattamento terapeutico di una patologia correlata al virus dell'immunodeficienza umana. Con l'espressione "correlata al virus dell'immunodeficienza umana" s'intende che la patologia è causata direttamente o indirettamente dal suddetto virus. Preferibilmente, la patologia correlata al virus dell'immunodeficienza umana è scelta nel gruppo che consiste di sindrome dell'immunodeficienza acquisita (AIDS), demenza e linfoma.

L'anticorpo monoclonale dell'invenzione può essere somministrato in qualsiasi modalità farmaceuticamente accettabile. Ad esempio, l'anticorpo può essere somministrato per via parenterale, preferibilmente tramite iniezione endovenosa o per infu-

sione lenta. Altre vie di somministrazioni ipotizzabili sono ad esempio la via orale, nasale, oftalmica, rettale o topica. L'anticorpo monoclonale dell'invenzione può quindi essere formulato in qualsiasi forma di dosaggio adatta per la via di somministrazione prevista. In aggiunta all'anticorpo, che svolge il ruolo di principio attivo, una forma di dosaggio include eccipienti e/o veicoli farmaceuticamente accettabili idonei per la via di somministrazione prevista. La scelta della via di somministrazione, della forma di dosaggio e dei veicoli e/o eccipienti farmaceuticamente accettabili rientra perfettamente nelle capacità della persona esperta del settore. In una forma di attuazione particolarmente preferita, l'anticorpo monoclonale dell'invenzione è somministrato per via iniettiva. In tal caso l'anticorpo è somministrato ad un dosaggio compreso fra circa 0,1 mg/kg e circa 100 mg/kg. Se l'anticorpo è somministrato mediante infusione lenta, può ad esempio essere utilizzata una infusione della durata di 30 minuti a 2 ore circa. La somministrazione è preferibilmente ripetuta con cadenza mensile, bimestrale o superiore per trattamenti sia in acuto sia in cronico sia intermittenti.

Nella parte sperimentale che segue è descritta una procedura di preparazione dell'anticorpo monoclonale MBA1 che forma oggetto dell'invenzione. Sono inoltre riportati gli studi effettuati dagli inventori per svelarne le proprietà di legame e neutralizzazione. La parte sperimentale che segue è fornita a puro titolo illustrativo e non limitativo della portata dell'invenzione come definita dalle annesse rivendicazioni.

PARTE SPERIMENTALE

1. Immunizzazione

Topi Balb/c femmine di 9 settimane sono stati immunizzati con 25µg/topo della proteina p17 BH10 emulsionata in adiuvante di Freund completo per la prima iniezione e incompleto per le ultime tre. Le immunizzazioni sono state eseguite a livello intraperitoneale con un intervallo di 7 giorni. Dopo tre giorni dall'ultima inoculazione è stata eseguita un'immunizzazione intracaudale.

2. Fusione cellulare e produzione di ibridomi

Da ogni topo è stata prelevata asetticamente la milza per il recupero degli splenociti potendo così procedere alla fusione con cellule mielomatose (NSO), geneticamente prive dell'enzima ipoxantina-guanina-fosforibosil-transferasi (HGPRT⁻). La mi-

sceola delle sospensioni cellulari così costituita è stata lentamente e delicatamente mescolata con glicole polietilenico per alcuni minuti e successivamente trasferita in un mezzo di coltura contenente ipoxantina, amminopterina e timidina (mezzo HAT) in piastre da 96 pozzetti incubate a 37°C al 5% di CO₂. Il giorno della fusione è stato calcolato come giorno 0; dopo circa tre giorni è stato possibile rilevare i primi cloni e dopo circa 15 giorni dalla fusione sono comparse le prime colonie di ibridomi. Si è proceduto quindi allo screening dei surnatanti per verificare l'eventuale presenza dell'anticorpo antigene-specifico. Lo screening è stato eseguito mediante la tecnica ELISA. La colonia di ibridomi risultata positiva è stata prelevata e clonata in apposite piastre da 96 pozzetti per selezionare gli ibridomi che producevano l'anticorpo e per isolare una linea di cellule derivanti da un singolo clone, ottenendo così l'anticorpo monoclonale MBA1 atto a reagire contro la proteina p17 BH10 e le sue varianti africane (vedere sotto).

3. Produzione e caratterizzazione delle varianti africane della proteina p17 BH10

L'RNA genomico di HIV-1 è stato isolato dal plasma di pazienti ugandesi mediante l'utilizzo del

kit di estrazione di RNA virale (Qiagen, Milano, Italia). L'estratto è stato successivamente sottoposto a retrotrascrizione adoperando la retrotrascrittasi MULV (Applera, Monza, Italia) e il risultante cDNA è stato utilizzato come template per eseguire una PCR ad alta fedeltà utilizzando la DNA Polimerasi Pfu. Per amplificare parziali sequenze di genoma di HIV-1 comprendenti il gene p17 BH10 sono stati utilizzati i seguenti primer: UGF1 (5'-GTG CCC GTC TGT TGT GTG A-3', SEQ ID NO:1) e UGR1 (5'-AAT CTT GTG GGG TGG CTC CTT 3', SEQ ID NO:2) per la prima fase e UGF2 (5'-ACA GGG ACC TGA AAG CGA AAG-3', SEQ ID NO:3) e UGR1 per la seconda fase. I prodotti di PCR sono stati purificati (Strataprep PCR purification Kit; Stratagene, La Jolla, CA, Stati Uniti d'America) e inseriti nel vettore di clonaggio SrfI-digested pPCR-Script Amp SK(+) (Stratagene). In seguito sia le sequenze nucleotidiche sia l'orientamento degli inserti sono stati verificati (CRIBI BMR Genomics Sequence Facility, Padova, Italia). I frammenti di p17 BH10 precedentemente clonati sono stati ulteriormente amplificati tramite PCR usando i seguenti primer: UGp17For (5'-TAA GGA TCC ATG GGT GCG AGA GCG TCA-3', SEQ ID NO:4) e UGp17Rev (5'-CGG GAA TTC TCA GTA ATT TTG

GCT GAC C-3', SEQ ID NO:5) contenenti rispettivamente i siti di restrizione BamHI e EcoRI. È stata eseguita una ligazione del frammento di DNA amplificato nel vettore di espressione procariotico pGEX-4T (GE Healthcare, Piscataway, NJ, Stati Uniti d'America) nella proporzione di 10:1 (inserto:vettore) a 16°C per 3 ore. I quattro prodotti clonati, denominati rispettivamente S75X, S85X, S92X e S012X, sono stati successivamente trasformati in cellule di *E. coli* BL21 (DE3) (Stratagene). Le loro sequenze nucleotidiche sono state confermate e i prodotti sono stati espressi tramite induzione con isopropil- β -D-1-tiogalattopiranoside (IPTG) e purificati mediante biglie di glutatione-sepharose 4B (GE Healthcare). Le proteine S75X, S85X, S92X e S012X e GST sono state ulteriormente purificate (>98%) mediante cromatografia liquida ad alta efficienza in fase inversa (HPLC). È stata valutata l'assenza di contaminazione da endotossina nelle preparazioni proteiche tramite la tecnica LAL (*Limulus amoebocyte lysate*) (BioWhittaker, Walkersville, ME). Le proteine, infine, sono state biotinilate con AH-N-idrossisuccinimido-biotina (AH-NHS-biotina, BioSPA, Milano, Italia) per essere utilizzate in un test citofluorimetrico di neutralizza-

zione.

4. ELISA

Il test ELISA è stato eseguito per selezionare gli ibridomi e i cloni secernenti l'anticorpo atto a riconoscere la proteina p17 BH10 e le sue varianti africane (S75X, S85X, S92X e S012X).

Ogni pozzetto di una piastra da 96 pozzetti è stato incubato con 1µg/ml di p17 BH10, S75X, S85X, S92X e S012X in un volume di 100 µl/pozzetto di PBS, pH 7,2, a temperatura ambiente per una notte. Il giorno seguente, dopo vari lavaggi in tampone di lavaggio (PBS/Tween 20 0,1%), i pozzetti sono stati saturati con 200 µl/pozzetto di PBS/BSA 3% per 1 ora a 37°C e incubati successivamente con i surnatanti cellulari da testare per 1 ora a 37°C. Dopo 4 lavaggi, è stato aggiunto un anticorpo secondario di capra anti-topo marcato con l'enzima HRP (Thermo Scientific, Waltham, MA), che ne ha permesso lo sviluppo agendo sul substrato OPD (Sigma-Aldrich, St Louis, MO). La lettura della densità ottica è stata eseguita mediante l'utilizzo di un lettore automatico alla lunghezza d'onda di 492 nm.

5. Western Blot

Per una più dettagliata conferma della specificità dell'anticorpo verso la proteina p17 BH10 e le

sue varianti africane, il surnatante dell'ibridoma selezionato è stato testato tramite la tecnica del Western Blot, che permette di verificare il legame dell'anticorpo alla proteina denaturata. Inizialmente, le proteine sono state sottoposte ad alta temperatura, per la denaturazione, e a elettroforesi SDS-PAGE. Quest'ultima tecnica permette alle proteine denaturate di correre lungo un gel di poliaccrilammide in base alle loro dimensioni, per poi essere trasferite su membrana di nitrocellulosa grazie all'azione di un campo elettrico. Per evidenziare le bande corrispondenti alle proteine, la membrana è stata colorata con Rosso Ponceau e lasciata asciugare. Successivamente è stata sottoposta ad un saggio immunoistochimico, tramite il quale, dopo saturazione dei siti aspecifici con PBS/BSA 5% e incubazione con il campione, è stato possibile verificare il legame dell'anticorpo monoclonale MBA1 alle proteine (p17 BH10 e sue varianti africane) dopo incubazione con un anticorpo secondario di capra anti-topo marcato con perossidasi di rafano (HRP) e sviluppo con il composto DAB (Sigma-Aldrich, St Louis, MO).

6. Determinazione della classe di isotipo dell'anticorpo monoclonale

Per determinare l'isotipo che caratterizza l'anticorpo monoclonale MBA1 prodotto e selezionato è stato utilizzato l'Isostrip Monoclonal Antibody Isotyping Kit (Saint-Cruz Biotechn).

7. Test citofluorimetrico di neutralizzazione dell'anticorpo monoclonale

L'anticorpo monoclonale ottenuto è stato sottoposto inoltre a test di neutralizzazione ottimizzato per verificare la sua capacità di bloccare l'interazione tra le proteine p17 (BH10 e sue varianti africane) e il recettore p17R. A tale scopo, è stata usata la linea di cellule Raji, una linea neoplastica di linfociti B esprime il recettore di superficie che lega la proteina p17 (p17R). Inizialmente l'anticorpo è stato incubato con la proteina p17 BH10 o le sue varianti africane biotinilate, per permettere la formazione del complesso antigene-anticorpo, e successivamente sono state aggiunte le cellule Raji con una incubazione per 30' a 4 °C. Dopo vari lavaggi, è stata effettuata un'ulteriore incubazione con streptavidina per rivelare, mediante analisi citofluorimetrica, l'eventuale presenza di proteina non neutralizzata dall'anticorpo monoclonale legata al recettore di superficie p17R.

8. Sequenze nucleotidiche

L'RNA cellulare è stato isolato dal clone se-
cernente l'anticorpo monoclonale MBA1 mediante
l'utilizzo del kit di estrazione di RNA (Qiagen,
Milano, Italia). L'estratto è stato sottoposto a
retrotrascrizione adoperando l'High Capacity cDNA
Archive Kit (Applied Biosystem) e il risultante
cDNA è stato utilizzato come template per amplifi-
care, tramite PCR, parziali sequenze codificanti
per le regioni variabili delle catene leggera (Vk)
e pesante (Vh) dell'anticorpo monoclonale. Per am-
plificare queste specifiche zone sono stati utiliz-
zati i seguenti primer: Vk 5' sense: 5'- CAGATCAGA-
TCTCGTGATGACCCAG -3', SEQ ID NO:6; 3' Vk antisense:
5'- agcccgtttgagctccagcttgg-3', SEQ ID NO:7;
MuG102, Fd 5' sense: 5'-
TGTCACCTCGAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGG-3', SEQ ID NO:8;
3' Vh antisense: 5'-gagactgtcaccggtgtgccttgg-3',
SEQ ID NO:9.

I prodotti della PCR sono stati clonati nel
vettore di clonaggio pGEM-T (Promega) sfruttando il
metodo "T/A Cloning", dopodiché i cloni contenenti
l'inserito sono stati sequenziati e analizzati.

Si è proceduto quindi al subclonaggio delle re-
gioni variabili delle catene leggera e pesante del

gene dell'Ig murina precedentemente isolato, dopo digestione con enzimi di restrizione (Bgl II e Sac I per Vk; Xho I e Sgr AI per Vh) in costrutti vettoriali di espressione, denominati rispettivamente L122S e L126S (Fiorentini S et al., Scand J Immunol 55, 284-292, 2002).

9. Risultati

L'anticorpo monoclonale prodotto, denominato MBA1, è risultato molto interessante per quanto riguarda diverse caratteristiche biochimico-molecolari. I risultati ottenuti dai test immunoenzimatici ELISA e Western Blot dimostrano che MBA1 riconosce le proteine p17 BH10, S75X, S85X, S92X e S012X sia nella conferma terziaria che nella struttura lineare. E' inoltre risultato che questo anticorpo non riconosce l'epitopo AT20.

La figura 1 mostra la reattività di legame dell'anticorpo MBA1 verso le diverse proteine di matrice. Il grafico mette in evidenza che l'anticorpo monoclonale MBA1 riconosce e lega le proteine di interesse, a differenza della proteina non correlata. Tali risultati sono stati confermati anche in Western Blot. E' stato infatti trovato che l'anticorpo monoclonale MBA1 lega la proteina p17 BH10 e le sue varianti africane anche nella forma

denaturata.

Gli inventori hanno inoltre identificato l'isotipo anticorpale dell'anticorpo monoclonale MBA1, che è risultato essere una immunoglobulina con isotipo IgG1/k-chain.

È stato effettuato un ulteriore test per verificare la capacità di legame neutralizzante le proteine p17 BH10, S75X, S85X, S92X e S012X dell'anticorpo monoclonale dell'invenzione. Dall'analisi citofluorimetrica effettuata sulle cellule Raji, caratterizzate dalla presenza in superficie del p17R, incubate con la proteina complessata con l'anticorpo in esame, si può notare che la totalità delle cellule non lega la proteina p17 biotinilata né le sue varianti africane, poiché la presenza dell'anticorpo monoclonale interferisce in maniera limitante, bloccando l'interazione p17-p17R (figura 2). Gli inventori hanno verificato se l'interazione tra p17 e il suo recettore fosse alterata in presenza di un altro anticorpo avente le stesse caratteristiche del MBA1 Mab: l'anticorpo monoclonale MBA15 scelto per questo confronto è, infatti, un'immunoglobulina IgG1 k-chain e, come MBA1 riconosce sia in ELISA che in Western Blot le diverse proteine p17, anche se in corrispondenza di

un diverso epitopo. Tuttavia, a differenza dell'anticorpo in esame, MBA15, come mostra la figura 2, non altera l'interazione tra le proteine saggiate e il loro recettore. Gli istogrammi rappresentati nella figura 2 mostrano infatti che la proteina p17 BH10 e le sue varianti africane sono in grado di legare il recettore specifico espresso sulla totalità delle cellule Raji analizzate.

In ultimo, gli inventori hanno eseguito uno studio delle sequenze nucleotidiche codificanti le regioni variabili delle catene pesante (Vh) e leggera (Vk) dell'anticorpo monoclonale MBA1 in esame per poter procedere alla chimerizzazione dell'anticorpo stesso. Le regioni variabili Vh e Vk isolate con primer specifici sono state inserite in due diversi costrutti vettoriali di espressione comprendenti le regioni restanti dell'anticorpo umano, in modo da assemblare in ultimo un anticorpo chimerico in un unico vettore di espressione finale. Le sequenze nucleotidiche delle regioni variabili della catena pesante e della catena leggera dell'anticorpo monoclonale MBA1 sono denominate rispettivamente SEQ ID NO: 10 e SEQ ID NO:11 nell'elenco delle sequenze.

Naturalmente, nella portata dell'invenzione

rientra qualsiasi anticorpo monoclonale comprendente una regione variabile della catena pesante comprendente la sequenza aminoacidica ottenibile dalla sequenza nucleotidica SEQ ID NO: 10 e una regione variabile della catena leggera comprendente la sequenza aminoacidica ottenibile dalla sequenza nucleotidica SEQ ID NO:11. In virtù della degenerazione del codice genetico, vale a dire del fatto che un aminoacido può essere codificato da più triplette nucleotidiche, l'espressione "ottenibile da" significa che alle sequenze nucleotidiche sopra menzionate SEQ ID NO:10 e 11 non hanno un significato limitativo.

In alternativa alla chimerizzazione, l'anticorpo monoclonale MBA1 dell'invenzione può essere prodotto in forma umanizzata, mediante tecniche convenzionali che sono ampiamente note alla persona esperta del settore e che pertanto non necessitano di ulteriore descrizione.

RIVENDICAZIONI

1. Anticorpo monoclonale anti-p17 del virus dell'immunodeficienza umana HIV-1, o frammento funzionale da esso derivato, comprendente almeno una regione variabile della catena pesante e una regione variabile della catena leggera, la regione variabile della catena pesante comprendendo la sequenza aminoacidica ottenibile dalla sequenza nucleotidica SEQ ID NO:10 e la regione variabile della catena leggera comprendendo la sequenza aminoacidica ottenibile dalla sequenza nucleotidica SEQ ID NO:11.
2. Anticorpo monoclonale secondo la rivendicazione 1, che è una immunoglobulina (Ig) intera.
3. Anticorpo monoclonale secondo la rivendicazione 2, che è una immunoglobulina della classe delle IgG.
4. Anticorpo monoclonale secondo la rivendicazione 3, che è una immunoglobulina con isotipo IgG1/k-chain.
5. Anticorpo monoclonale secondo la rivendicazione 1, che è un frammento Fab.
6. Anticorpo monoclonale secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 5, che è un anticorpo chimérico.

7. Anticorpo monoclonale secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 5, che è un anticorpo umanizzato.

8. Anticorpo monoclonale secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 7, o frammento funzionale da esso derivato, per l'impiego come medicamento.

9. Anticorpo monoclonale secondo la rivendicazione 8, o frammento funzionale da esso derivato, per l'impiego come medicamento per il trattamento terapeutico di una patologia correlata al virus dell'immunodeficienza umana (HIV).

10. Anticorpo monoclonale secondo la rivendicazione 9, o frammento funzionale da esso derivato, in cui la patologia correlata al virus dell'immunodeficienza umana è scelta nel gruppo che consiste di sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS), demenza e linfoma.

11. Composizione farmaceutica per il trattamento di una patologia correlata al virus dell'immunodeficienza umana (HIV), comprendente una quantità terapeuticamente efficace di un anticorpo monoclonale secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 7, o di un frammento funzionale da esso derivato, in combinazione con uno o più eccipienti farmaceuticamente accettabili.

12. Sequenza di acido nucleico isolata codificante un anticorpo monoclonale secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 7, o per un frammento funzionale da esso derivato.

13. Sequenza di acido nucleico isolata secondo la rivendicazione 12, comprendente la sequenza nucleotidica SEQ ID NO:10 e/o la sequenza nucleotidica SEQ ID NO:11.

14. Vettore ricombinante di espressione comprendente una sequenza di acido nucleico secondo la rivendicazione 12 o la rivendicazione 13.

15. Cellula ospite trasformata con un vettore ricombinante di espressione secondo la rivendicazione 14.

CLAIMS

1. A monoclonal antibody against p17 of the human immunodeficiency virus HIV-1, or a functional fragment thereof, comprising at least a heavy chain variable region and a light chain variable region, the heavy chain variable region comprising an amino acid sequence obtainable by the nucleic acid sequence SEQ ID NO:10 and the light chain variable region comprising an amino acid sequence obtainable by the nucleic acid sequence SEQ ID NO:11.
2. The monoclonal antibody according to claim 1, which is a whole immunoglobulin (Ig).
3. The monoclonal antibody according to claim 2, which is an immunoglobulin of the IgG class.
4. The monoclonal antibody according to claim 3, which is an immunoglobulin of the isotype IgG1/k-chain.
5. The monoclonal antibody according to claim 1, which is a Fab fragment.
6. The monoclonal antibody according to any of claims 1 to 5, which is a chimeric antibody.
7. The monoclonal antibody according to any of claims 1 to 5, which is a humanized antibody.
8. The monoclonal antibody according to any of claims 1 to 7, or a functional fragment thereof,

for use as a medicament.

9. The monoclonal antibody according to claim 8, or a functional fragment thereof, for use as a medicament for the therapeutic treatment of a disease related to the human immunodeficiency virus (HIV).

10. The monoclonal antibody according to claim 9, or a functional fragment thereof, wherein the disease related to the human immunodeficiency virus is selected from the group consisting of acquired immune deficiency syndrome (AIDS), dementia and lymphoma.

11. A pharmaceutical composition for the treatment of a disease related to the human immunodeficiency virus (HIV), comprising a therapeutically effective amount of a monoclonal antibody according to any of claims 1 to 7, or a functional fragment thereof, in combination with one or more pharmaceutically acceptable carriers.

12. An isolated nucleic acid sequence coding for a monoclonal antibody according to any of claims 1 to 7, or for a functional fragment thereof.

13. The isolated nucleic acid sequence according to claim 12, comprising the nucleic acid sequence SEQ ID NO:10 and/or the nucleic acid sequence SEQ ID NO:11.

14. A recombinant expression vector comprising the nucleic acid sequence according to claim 12 or claim 13.

15. A host cell transformed with a recombinant expression vector according to claim 14.

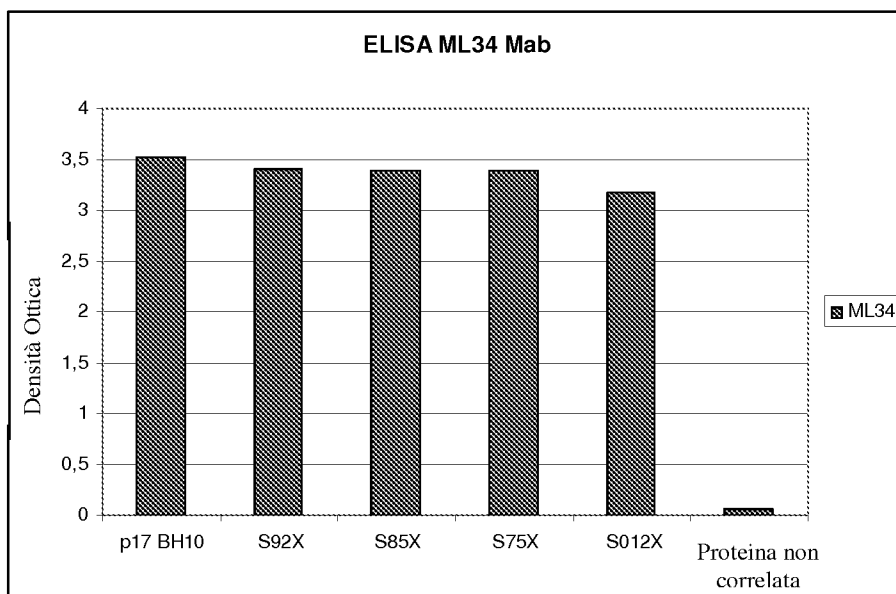


FIGURA 1

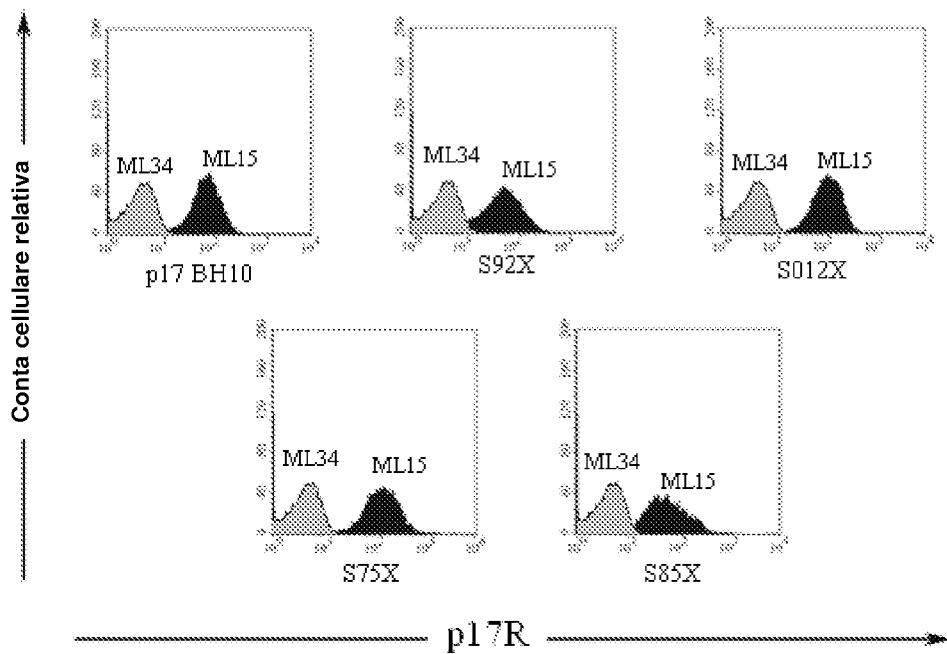


FIGURA 2