

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 908 474**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.04.2013** **E 17208896 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.02.2022** **EP 3326649**

54 Título: **Anticuerpos anti-IL-23p19**

30 Prioridad:

03.05.2012 US 201261642032 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
29.04.2022

73 Titular/es:

**BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL
GMBH (100.0%)
Binger Strasse 173
55216 Ingelheim am Rhein, DE**

72 Inventor/es:

**NABOZNY, GERALD HENRY;
GALLER, ANNETTE BETTINA;
GARIDEL, PATRICK;
LOGING, WILLIAM TROY;
PADULA, STEVEN JOHN;
SCHULTZ-FADEMRECHT, TORSTEN y
WANG, ELAINE EE-LING**

74 Agente/Representante:

BERTRÁN VALLS, Silvia

Observaciones:

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

ES 2 908 474 T3

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

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos anti-IL-23p19

5 Campo técnico de la invención

Esta invención se refiere, en general, a anticuerpos anti-IL-23p19 para uso terapéutico. Más específicamente, se divulgan anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados y métodos de uso para el tratamiento de diversas enfermedades o trastornos. También se divulgan composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos.

10 Antecedentes de la invención

Los eucariotas superiores han desarrollado una respuesta intrincada a los patógenos que se inicia por la respuesta inmunitaria innata y le sigue la respuesta inmunitaria adaptativa. Juntos, estos dos mecanismos no sólo erradican los patógenos que infectan al organismo sino que también establecen una respuesta inmunológica a largo plazo contra exposiciones futuras. Las deficiencias en estas respuestas pueden dar como resultado un aumento de la susceptibilidad a infecciones y/o alteraciones de la respuesta inmunitaria adaptativa, lo que conduce a inflamación crónica y autoinmunidad.

La IL-12, una citocina heterodimérica que consiste en una subunidad de proteína p40 y una p35, se ha considerado durante mucho tiempo la citocina distintiva de la respuesta inmunitaria innata con mayor influencia en la inmunidad adaptativa. Sin embargo, los datos de la investigación del papel biológico de esta citocina condujeron a resultados confusos. Por ejemplo, mientras que los ratones deficientes en p40 eran resistentes a la artritis inducida por colágeno (AIC) y a la encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE), los ratones deficientes en p35 eran susceptibles a ambas e incluso mostraban una enfermedad agravada. Tales problemas comenzaron a resolverse con el descubrimiento a finales de la década de 1990 de un nuevo miembro de la familia de citocinas IL-12 con un papel distinto en la respuesta inmunitaria, IL-23.

La IL-23 se compone de una subunidad común (p40) con IL-12 y una subunidad p19 única. A pesar de esta subunidad p40 compartida, los papeles para IL-23 e IL-12 son bastante diferentes. La IL-12 es importante para las respuestas Th1 a través del fomento de la diferenciación, proliferación y activación de células Th1. En cambio, la IL-23 respalda el desarrollo y mantenimiento de un conjunto recientemente definido de células T cooperadoras CD4⁺ denominadas células Th17 debido a su capacidad para producir IL-17 y citocinas relacionadas. Cada vez hay más evidencias de que la IL-23 está implicada en la inflamación autoinmunitaria crónica, y la modulación de la actividad de IL-23 podría proporcionar terapias prometedoras contra enfermedades autoinmunitarias.

El documento WO 2011/066369 divulga anticuerpos anti-IL-6 pero menciona formulaciones de los mismos sólo de manera general. Esto también es cierto para el documento WO 2007/024846. En el documento US 2006/088523 se divulgan anticuerpos anti-HER2 y anti-DR5 que se formulan en tampón histidina-acetato.

Por tanto, existe la necesidad de moléculas antagonistas contra IL-23 con propiedades farmacológicas beneficiosas, que puedan usarse como agentes terapéuticos para tratar enfermedades, en particular enfermedades inmunológicas y autoinmunitarias en humanos.

Por consiguiente, el objetivo de la presente invención es proporcionar composiciones farmacéuticas para moléculas de anticuerpo, en particular para anticuerpos anti-IL-23p19. Un objetivo particular de la presente invención es proporcionar composiciones farmacéuticas para moléculas de anticuerpo con estabilidad y capacidad de almacenamiento favorables.

50 Sumario de la invención

La presente invención aborda las necesidades anteriores y proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo que se une a la subunidad p19 de IL-23 tal como se define en las reivindicaciones. El anticuerpo de las composiciones de la presente invención se une a IL-23 humana con alta afinidad e inhibe la producción estimulada por IL-23 de IL-17 a partir de esplenocitos de ratón. En otro aspecto, el anticuerpo no se une a ni antagoniza IL-12, que es un miembro de la familia estrechamente relacionado con IL-23.

En el presente documento se proporcionan anticuerpos anti-IL-23p19 que derivan de hibridomas de ratón, por ejemplo, anticuerpos monoclonales. En el presente documento se proporcionan anticuerpos anti-IL-23p19 de longitud completa. También se proporcionan anticuerpos humanizados anti-IL-23p19, por ejemplo, anticuerpos anti-IL-23p19 monoclonales humanizados, por ejemplo, anticuerpos anti-IL-23p19 monoclonales humanizados de longitud completa. En un aspecto, un anticuerpo humanizado se une a IL-23 humana con alta afinidad. En otro aspecto, un anticuerpo humanizado también se une a IL-23 de macaco cangrejero con alta afinidad. En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado inhibe la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 en células DB. En otro aspecto, un anticuerpo humanizado antagoniza la acción de IL-23 mediante su unión a la subunidad p19 de IL-23, por ejemplo, tal como se mide mediante la inhibición de citocinas tales como IL-17 e IL-22, cuya producción está estimulada por IL-23. En un

aspecto adicional, un anticuerpo humanizado tiene un perfil farmacocinético (PK) favorable. En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene propiedades biofísicas favorables, tales como calidad, estabilidad o solubilidad, por ejemplo, tal como se define mediante el porcentaje de anticuerpo en forma de monómero. Aspectos de referencia adicionales abarcan moléculas de ADN que codifican para anticuerpos de la divulgación, vectores de expresión y células huésped que comprenden tales moléculas de ADN, y métodos de fabricación de anticuerpos de la presente invención. La presente invención proporciona además usos terapéuticos para los anticuerpos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención, en particular contra enfermedades inmunológicas y autoinmunitarias.

En aspectos de referencia, la memoria descriptiva proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una secuencia de CDR1 de cadena ligera (L-CDR1) de SEQ ID NO:1, 4, 6, 7, 8, 11, 15, 18, 19, 22, 27 ó 30; una secuencia de CDR2 de cadena ligera (L-CDR2) de SEQ ID NO:2, 5, 9, 12, 16, 20, 23, 25, 28 ó 31; una secuencia de CDR3 de cadena ligera (L-CDR3) de SEQ ID NO:3, 10, 13, 14, 17, 21, 24, 26, 29 ó 32; una secuencia de CDR1 de cadena pesada (H-CDR1) de SEQ ID NO:33, 36, 38, 40, 43, 45, 48, 51, 54, 57, 60, 63, 66, 67, 68, 69, 77 u 80; una secuencia de CDR2 de cadena pesada (H-CDR2) de SEQ ID NO:34, 39, 41, 46, 49, 52, 55, 58, 61, 64, 70, 72, 73, 75, 78 u 81; y una secuencia de CDR3 de cadena pesada (H-CDR3) de SEQ ID NO:35, 37, 42, 44, 47, 50, 53, 56, 59, 62, 65, 71, 74, 76, 79 u 82. En un aspecto, el anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una L-CDR1 enumerada anteriormente, una L-CDR2 enumerada anteriormente y una L-CDR3 enumerada anteriormente, y una región variable de cadena pesada que comprende una H-CDR1 enumerada anteriormente, una H-CDR2 enumerada anteriormente y una H-CDR3 enumerada anteriormente.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:1, 2, 3, 33, 34 y 35, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:4, 5, 3, 36, 34 y 37, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:1, 2, 3, 38, 39 y 35, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:6, 2, 3, 40, 41 y 42, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:7, 2, 3, 43, 41 y 44, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:8, 9, 10, 45, 46 y 47, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:8, 9, 10, 48, 49 y 50, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:11, 12, 13, 51, 52 y 53, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:7, 2, 14, 54, 55 y 56, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:15, 16, 17, 57, 58 y 59, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:18, 16, 17, 60, 61 y 62, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:19, 20, 21, 63, 66, 67 ó 68, 64 y 65, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:22, 23, 24, 69, 70 y 71, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:22, 25, 26, 55, 72 y 71, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:8, 9, 10, 45, 73 y 74, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:27, 28, 29, 45, 75 y 76, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:8, 9, 10, 77, 78 y 79, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:30, 31, 32, 80, 81 y 82, respectivamente. En un aspecto de referencia, el anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una combinación de L-CDR1, L-CDR2 y L-CDR3 enumerada anteriormente, y una región variable de cadena pesada que comprende una combinación de H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 enumerada anteriormente.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:84 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:121; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:86 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:123; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:88 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:125; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:90 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:127; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:91 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:128; o una región variable

de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:130; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:95 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:132; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:97 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:134; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:99 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:136; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:101 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:138; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:103 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:140; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:105 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:142; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:107 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:144; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:109 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:146; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:111 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:148; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:113 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:150; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:115 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:152; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:117 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:154; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:119 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:156.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:158, 160, 162 y 164 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:166, 168, 170 y 172.

La presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una K_D para IL-23 de menos de 40 pM, o una K_D para IL-23 de menos de 20 pM, o una K_D para IL-23 de menos de 10 pM, o una K_D para IL-23 de menos de 1 pM.

La presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a IL-23p19 humana en un epítipo que consiste en los residuos de aminoácido 108 a 126 y los residuos de aminoácido 137 a 151 de SEQ ID NO:181.

La presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une de manera competitiva a IL-23p19 humana con un anticuerpo de la presente divulgación. En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une de manera competitiva a IL-23p19 humana con un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:174 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178. En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une de manera competitiva a IL-23p19 humana con un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:180 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:176. En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une de manera competitiva a IL-23p19 humana con un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:180 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178.

El anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo humanizado. El anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo de longitud completa. El anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa. En un aspecto de referencia, el fragmento de unión a antígeno es un fragmento Fab, $F(ab')_2$ o Fv de cadena sencilla. En una realización, el fragmento de unión a antígeno comprende una región variable de cadena ligera y una región variable de cadena pesada.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19 (*CDR1-L*); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20 (*CDR2-L*); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 (*CDR3-L*); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63, 66, 67 ó 68

(*CDR1-H*); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64 (*CDR2-H*); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 (*CDR3-H*).

5 En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19 (*CDR1-L*); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20 (*CDR2-L*); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 (*CDR3-L*); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66 (*CDR1-H*); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64 (*CDR2-H*); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 (*CDR3-H*).

10 En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19 (*CDR1-L*); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20 (*CDR2-L*); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 (*CDR3-L*); y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63, 66, 67 ó 68 (*CDR1-H*); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64 (*CDR2-H*); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 (*CDR3-H*).

15 En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:19 (*CDR1-L*); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20 (*CDR2-L*); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 (*CDR3-L*); y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66 (*CDR1-H*); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64 (*CDR2-H*); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65 (*CDR3-H*).

20 En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO:158, 160, 162 ó 164; y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO:166, 168, 170 ó 172.

25 En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:160 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:166.

30 En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:160 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:168.

35 En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:158 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:166.

40 En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:158 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:168.

45 En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:166 ó 168 unida a una región constante de cadena pesada de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA o IgE humana. Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:166 ó 168 unida a una región constante de cadena pesada de IgG1 humana. Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:158 ó 160 unida a una región constante de cadena ligera kappa o lambda. Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:158 ó 160 unida a una región constante de cadena ligera kappa.

50 En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:166 ó 168 unida a una región constante de cadena pesada de IgG1 humana; y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:158 ó 160 unida a una región constante de cadena ligera kappa.

55 En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en una cualquiera de SEQ ID NO:158, 160, 162 y 164 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en una cualquiera de SEQ ID NO:166, 168, 170 y 172.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:160 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:166.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:160 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:168.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:158 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:166.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:158 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:168.

En una realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica tal como se describe en las reivindicaciones, que comprende un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:174 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:176.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:160 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO:160 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:166 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO:166. En un aspecto de referencia, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:160 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO:160 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:168 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO:168. En un aspecto de referencia, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:158 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO:158 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:166 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO:166. En un aspecto de referencia, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:158 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO:158 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:168 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO:168. En un aspecto de referencia, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa.

En un aspecto de referencia, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse además por una K_D para IL-23 humana igual a o menor de 1 pM. En un aspecto, no hay cambio en la asociación de unión en suero humano al 50%.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse además porque bloquea la unión de IL-23 a IL-23R/Fc humano *in vitro*.

5 En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse además porque no se une a IL-12 humana.

10 En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse además porque inhibe la producción de IL-17 inducida por IL-23 humana en esplenocitos de ratón con CI_{50} iguales a o menores de 20 pM.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse además porque inhibe la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 humana en células DB humanas con CI_{50} iguales a o menores de 40 pM.

15 En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse además porque no tiene actividad predicha en CCDA/CDC.

20 En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse además porque tiene una K_D igual a o menor de 1 pM para IL-23 de macaco cangrejero.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse además porque no tiene reactividad cruzada con IL-23 de ratón o de rata.

25 En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse además porque inhibe la producción de IL-17 e IL-22 inducida por IL-23 humana en una oreja de ratón con una inhibición del 80% o mayor de ambas citocinas a 1 mg/kg.

30 En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse además por una temperatura de fusión de 83°C tal como se determina mediante calorimetría diferencial de barrido.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse además por una solubilidad igual a o mayor de 100 mg/ml, tal como se mide mediante espectroscopía UV y monitoriza por la turbidez.

35 En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse además porque está presente en al menos el 90% en forma de monómero, o en al menos el 92% en forma de monómero, o en al menos el 95% en forma de monómero en a tampón.

40 En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse además porque permanece en al menos el 90% en forma de monómero, o en al menos el 92% en forma de monómero, o en al menos el 95% en forma de monómero en un tampón durante un mes o durante cuatro meses.

45 El anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal humanizado.

Aspectos de referencia adicionales abarcan una molécula de ADN que codifica para una región de cadena ligera variable anterior, una molécula de ADN que codifica para una región de cadena pesada variable anterior, una molécula de ADN que codifica para una región de cadena ligera anterior o una molécula de ADN que codifica para una región de cadena pesada anterior.

50 Aspectos de referencia adicionales abarcan un vector de expresión que contiene una molécula de ADN anterior. En un aspecto de referencia, un vector de expresión comprende una molécula de ADN que codifica para la cadena pesada constante y/o la cadena ligera constante, respectivamente, unida a una molécula de ADN que codifica para la cadena pesada variable y/o la cadena ligera variable, respectivamente. Aspectos de referencia adicionales abarcan una célula huésped que porta uno o más vectores de expresión anteriores. En un aspecto de referencia, un huésped es una célula de mamífero.

60 Aspectos de referencia adicionales abarcan un método para producir un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo anterior que comprende transfectar una célula huésped de mamífero con uno o más de los vectores anteriores, cultivar la célula huésped y recuperar y purificar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

65 Aspectos de referencia adicionales abarcan un método para producir un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo anterior que comprende obtener una célula huésped de mamífero que comprende uno o más de los vectores anteriores y cultivar la célula huésped. En una realización, el método comprende además recuperar y purificar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

En una realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica tal como se define en las reivindicaciones, para su uso en medicina, tal como se define en las reivindicaciones. En un aspecto, el anticuerpo es el anticuerpo A, anticuerpo B, anticuerpo C o anticuerpo D. En una realización, el uso es el tratamiento de una enfermedad inflamatoria, de una enfermedad autoinmunitaria, de una enfermedad respiratoria, de un trastorno metabólico o de cáncer. En una realización, el uso es para el tratamiento de psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), artritis psoriásica, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante o síndrome de Kawasaki. En una realización, el uso es para el tratamiento de psoriasis. En una realización, el uso es para el tratamiento de enfermedad inflamatoria intestinal, por ejemplo, enfermedad de Crohn. En una realización, el uso es para el tratamiento de espondilitis anquilosante.

En una realización, el uso es para el tratamiento de psoriasis en placas, por ejemplo, psoriasis en placas crónica, por ejemplo, psoriasis en placas crónica de moderada a grave, por ejemplo, en pacientes adultos. En una realización, los pacientes son candidatos para terapia sistémica o fototerapia. En una realización, el uso es para el tratamiento de psoriasis en placas crónica de moderada a grave, por ejemplo, en pacientes que son candidatos para terapia sistémica o fototerapia, por ejemplo, pacientes adultos.

En una realización, el uso es para el tratamiento de psoriasis pustulosa palmar, psoriasis en gotas, psoriasis flexural, psoriasis pustulosa o psoriasis eritrodérmica.

En una realización, el uso es para el tratamiento de enfermedad de Crohn. En un aspecto adicional, el uso es para reducir los signos y síntomas, mejorar la cicatrización de la mucosa e inducir y mantener la remisión clínica en pacientes adultos con enfermedad de Crohn de moderada a gravemente activa, en particular en pacientes que han tenido una respuesta inadecuada a la terapia convencional. En un aspecto adicional, el uso es para reducir el número de fistulas enterocutáneas y rectovaginales drenantes y mantener el cierre de fistulas en pacientes adultos con enfermedad de Crohn fistulizante.

En una realización, el uso es para el tratamiento de espondiloartritis. En una realización adicional, el uso es para el tratamiento de espondilitis anquilosante. En un aspecto adicional, el uso es para reducir los signos y síntomas en pacientes con espondilitis anquilosante activa. En un aspecto adicional, el uso es para el tratamiento de espondilitis anquilosante activa radiográfica grave en pacientes adultos, en particular, pacientes que han respondido de manera inadecuada a la terapia convencional.

En una realización adicional, el uso es para el tratamiento de espondiloartritis axial no radiográfica. En un aspecto adicional, el uso es para el tratamiento de adultos con espondiloartritis axial grave sin evidencias radiográficas de EA pero con signos objetivos de inflamación por CRP elevada y/o IRM, en particular pacientes que han tenido una respuesta inadecuada a, o son intolerantes a, fármacos antiinflamatorios no esteroideos.

En una realización adicional, el uso es para el tratamiento de espondiloartritis periférica.

En una realización, el uso es para el tratamiento de lupus discoide, malaria, melanoma maligno, anemia aplásica, enfermedad de Huntington, pustulosis palmoplantar, nefritis por IgA, vasculitis asociada a ANCA, escleritis o septicemia.

En un aspecto de referencia, el uso es para el tratamiento de pustulosis palmoplantar. En un aspecto de referencia, el uso es para el tratamiento de esclerodermia sistémica.

En una realización, el anticuerpo es el anticuerpo A.

En una realización, la presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende una molécula de anticuerpo o fragmento de unión a antígeno anterior y un portador farmacéuticamente aceptable, tal como se describe en las reivindicaciones, en particular una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo, en la que dicho anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:174 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:176, en la que dicha composición farmacéutica comprende:

90 mg/ml de dicho anticuerpo y polisorbato 20 0,16 mmol/l, en la que dicha composición farmacéutica comprende además (i) sorbitol 240 mmol/l o (ii) ácido succínico 0,5 mmol/l, succinato de disodio hexahidratado 3,9 mmol/l y sorbitol 225 mmol/l, en la que el pH de dicha composición farmacéutica está en el intervalo de pH 5,5 a 6,5.

En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se administra por una vía de administración parenteral, o se administra por vía intravenosa o por vía subcutánea. En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se administra por vía subcutánea. En una realización, la enfermedad es psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), artritis psoriásica, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante o síndrome de Kawasaki. En una realización, la enfermedad es psoriasis. En una realización, la enfermedad es enfermedad inflamatoria intestinal, por ejemplo, enfermedad de Crohn. En una realización, la enfermedad es espondilitis anquilosante.

En una realización, la enfermedad es psoriasis en placas, por ejemplo, psoriasis en placas crónica, por ejemplo, psoriasis en placas crónica de moderada a grave. En una realización, los pacientes son pacientes adultos, por ejemplo, que son candidatos para terapia sistémica o fototerapia. En una realización, la enfermedad es psoriasis en placas crónica de moderada a grave.

En una realización, la enfermedad es psoriasis pustulosa palmar, psoriasis en gotas, psoriasis flexural, psoriasis pustulosa o psoriasis eritrodérmica.

En una realización, la presente divulgación proporciona un método para reducir los signos y síntomas, mejorar la cicatrización de la mucosa e inducir y mantener la remisión clínica en pacientes adultos con enfermedad de Crohn de moderada a gravemente activa, en particular en pacientes que han tenido una respuesta inadecuada a la terapia convencional, comprendiendo dicho método administrar al paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en particular un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo anterior, o una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, por ejemplo, una composición farmacéutica divulgada en el presente documento. En un aspecto de referencia, el anticuerpo es el anticuerpo A, anticuerpo B, anticuerpo C o anticuerpo D. En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un método para reducir el número de fistulas enterocutáneas y rectovaginales drenantes y mantener el cierre de fistulas en pacientes adultos con enfermedad de Crohn fistulizante, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo anterior, o una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, por ejemplo, una composición farmacéutica divulgada en el presente documento.

En una realización, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de espondiloartritis. En una realización, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de espondilitis anquilosante. En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un método para reducir los signos y síntomas en pacientes con espondilitis anquilosante activa. Los métodos anteriores comprenden administrar a un sujeto que lo necesita, por ejemplo, un paciente, una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo tal como se define en las reivindicaciones. En un aspecto de referencia, el anticuerpo es el anticuerpo A, anticuerpo B, anticuerpo C o anticuerpo D.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de espondilitis anquilosante activa radiográfica grave en pacientes adultos, en particular, pacientes que han respondido de manera inadecuada a la terapia convencional, que comprende administrar al paciente una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo tal como se define en las reivindicaciones. En un aspecto de referencia, el anticuerpo es el anticuerpo A, anticuerpo B, anticuerpo C o anticuerpo D.

En una realización, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de espondiloartritis axial no radiográfica. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de adultos con espondiloartritis axial grave sin evidencias radiográficas de EA pero con signos objetivos de inflamación por CRP elevada y/o IRM, en particular pacientes que han tenido una respuesta inadecuada a, o son intolerantes a, fármacos antiinflamatorios no esteroideos. En una realización, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de espondiloartritis periférica. Los métodos anteriores comprenden administrar a un sujeto que lo necesita, por ejemplo, una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo tal como se define en las reivindicaciones. En una realización, el anticuerpo es el anticuerpo A.

En una realización, la enfermedad es lupus discoide, malaria, melanoma maligno, anemia aplásica, enfermedad de Huntington, pustulosis palmoplantar, nefritis por IgA, vasculitis asociada a ANCA, escleritis o septicemia.

En una realización, la enfermedad es pustulosis palmoplantar. En una realización, la enfermedad es esclerodermia sistémica.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un método para inhibir la unión de IL-23 al receptor de IL-23 en una célula de mamífero, que comprende administrar a la célula una molécula de anticuerpo o fragmento de unión a antígeno anterior, mediante lo cual se inhibe la señalización mediada por el receptor de IL-23.

En una realización, la presente invención proporciona además un método para tratar a un sujeto que padece un trastorno asociado a IL-23, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-IL-23 tal como se describe en las reivindicaciones.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un método para detectar y/o cuantificar los niveles de IL-23 en una muestra biológica poniendo en contacto la muestra con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno anterior y detectar la unión del anticuerpo o fragmento del mismo con IL-23p19. Esta información puede usarse para diagnosticar un trastorno asociado a IL-23. Por tanto, se proporcionan métodos para diagnosticar un trastorno asociado a IL-23 o para determinar si un sujeto tiene un riesgo aumentado de desarrollar un trastorno asociado a IL-23, en los que el método comprende poner en contacto una muestra biológica de un sujeto con un

anticuerpo o fragmento de unión a antígeno anterior y detectar la unión del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno a IL-23p19 para determinar la expresión o concentración de IL-23.

En un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona además un método para inhibir la unión de IL-23 al receptor de IL-23 en una célula, que comprende administrar a la célula o al entorno celular un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno anterior, mediante lo cual se inhibe la señalización mediada por el receptor de IL-23.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: Alineación de regiones variables de ratón y humanizadas. Figura 1a: regiones Vk modificadas por ingeniería de anticuerpo anti-IL-23p19 6B8. Figura 1b: regiones VH modificadas por ingeniería de anticuerpo anti-IL-23p19 6B8.

La numeración de los aminoácidos es mediante el esquema de numeración de Kabat convencional. Fuente normal = humano; fuente cursiva/subrayada = murino; fuente sombreada = sintético; en negrita/cursiva/subrayado = CDR.

Figura 2: Ensayo de unión por competición de humano de la unión de IL-23 a IL-23R/Fc.

Descripción detallada

La subunidad p19 de IL-23 (también denominada en el presente documento "IL-23p19" y "subunidad p19") es un polipéptido de 189 aminoácidos que contiene una secuencia líder de 21 aa (Oppmann *et al.* Immunity 13:715 (2000), SEQ ID NO:181). La actividad biológica de la molécula se detecta sólo cuando se empareja con la subunidad IL-12p40 para formar IL-23. La IL-23 se expresa predominantemente por células fagocíticas y células dendríticas (DC) activadas. Se halló que el receptor para IL-23 se componía de la subunidad IL-12R β 1 del receptor de IL-12 emparejada con una subunidad única denominada IL-23R (Parham *et al.* J. Immunol. 168:5699 (2002)). La expresión del receptor se detecta principalmente en células T de memoria y células NK. Por tanto, parece que la expresión de este par citocina:receptor está restringida a poblaciones específicas de células inmunitarias. Aunque en primer lugar se creía que IL-12 e IL-23 compartirían muchas funciones, los datos han demostrado que la situación es diferente. Mientras que IL-12 tiene un papel predominante en la producción de células Th1, se halló que la IL-23 estaba implicada críticamente en la producción y el mantenimiento de un subconjunto de células Th recientemente reconocido denominado Th17 (Kikly *et al.* Curr. Opin. Immunol. 18:670 (2006), Kastelein *et al.* Ann. Rev. Immunol. 25:221 (2007)). Estas células producen IL-17A, IL-17F, IL-22 y otras citocinas proinflamatorias tales como IL-6 y TNF- α . Tal como se describe a continuación, estudios en modelos animales sobre el papel de estas células Th17 muestran su importancia como fuerza impulsora en la inflamación crónica y la autoinmunidad.

La presente divulgación proporciona anticuerpos que se unen a la subunidad p19 de IL-23, en particular IL-23p19. También se divulgan en el presente documento anticuerpos humanizados que reconocen la subunidad p19 de IL-23. En aspectos de referencia específicos, se ha identificado la secuencia de estos anticuerpos humanizados basándose en las secuencias de determinados anticuerpos de ratón de partida.

Los anticuerpos de ratón de partida de la presente divulgación derivaron de hibridomas de ratón. La inmunización de los ratones se lleva a cabo usando diferentes técnicas. Por ejemplo, los anticuerpos que son específicos para proteínas IL-23p19 humanas o fragmentos de las mismas pueden generarse contra un antígeno inmunogénico tal como una proteína IL-23p19 aislada, una proteína IL-23 aislada, una proteína IL-23 híbrida aislada y/o una porción de la misma de cualquiera de las anteriores (incluyendo péptidos sintéticos). Por ejemplo, se usa una proteína IL-23 híbrida que comprende una subunidad IL-23p40 de ratón y una subunidad IL-23p19 humana para inmunizar ratones. La preparación de antígenos inmunogénicos y la producción de anticuerpos monoclonales pueden realizarse usando cualquier técnica adecuada conocida en la técnica.

Los anticuerpos de ratón de partida se seleccionaron basándose en su alta afinidad con IL-23 humana. Por consiguiente, en un aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo que se une a IL-23 humana con alta afinidad. Los anticuerpos de ratón seleccionados se humanizaron para dar como resultado anticuerpos humanizados. Los anticuerpos humanizados de la presente divulgación se unen a IL-23 humana con alta afinidad. Por consiguiente, en otro aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona un anticuerpo humanizado que se une a IL-23 humana con alta afinidad. Por consiguiente, en un aspecto de referencia, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 que tiene una K_D de menos de 40 pM. En una realización adicional, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 que tiene una K_D de menos de 20 pM. En un aspecto de referencia adicional, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 que tiene una K_D menor de 10 pM. En un aspecto de referencia adicional, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 que tiene una K_D menor de 1 pM.

En otro aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación se une a IL-23p19 con alta afinidad en ausencia de suero humano o en presencia de suero humano al 50%.

En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación también se une a IL-23 de macaco cangrejero con alta afinidad.

En otro aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación se une a IL-23, pero no se une a IL-12. En un aspecto adicional, un anticuerpo de la presente divulgación no interfiere con la actividad biológica de IL-12, que es un miembro de la familia estrechamente relacionado con IL-23.

- 5 En otro aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación inhibe la producción estimulada por IL-23 de IL-17 a partir de esplenocitos de ratón.

En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación inhibe la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 en células DB.

- 10 En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación antagoniza la acción de IL-23 mediante su unión a la subunidad p19 de IL-23, tal como se mide mediante la inhibición de citocinas tales como IL-17 e IL-22, cuya producción está estimulada por IL-23, y se detecta mediante la reducción en los niveles de estas citocinas.

- 15 En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene un perfil farmacocinético (PK) favorable, tal como se muestra a modo de ejemplo mediante la semivida *in vivo* en macacos cangrejeros.

En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado de la presente divulgación tiene propiedades biofísicas favorables, por ejemplo, calidad, estabilidad o solubilidad.

- 20 El anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo humanizado. El anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal. En un aspecto, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo de longitud completa. En un aspecto, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa.

- 25 Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente divulgación reconoce un "epítipo del antígeno de IL-23p19" o "epítipo de IL-23p19" específico. Tal como se usa en el presente documento, estos términos se refieren a una molécula (por ejemplo, un péptido) o a un fragmento de una molécula capaz de presentar inmunorreactividad con un anticuerpo anti-IL-23p19 y, por ejemplo, incluyen un determinante antigénico de IL-23p19 reconocido por
30 cualquiera de los anticuerpos que tienen una combinación de secuencias de cadena ligera/cadena pesada de SEQ ID NO:84/121, 86/123, 88/125, 90/127, 91/128, 93/130, 95/132, 97/134, 99/136, 101/138, 103/140, 105/142, 107/144, 109/146, 111/148, 113/150, 115/152, 117/154, 119/156, 160/166, 160/168, 158/166 ó 158/168. Los epítipos del antígeno de IL-23p19 pueden incluirse en proteínas, fragmentos de proteínas, péptidos o similares. Lo más habitualmente, los epítipos son proteínas, oligopéptidos cortos, agentes miméticos de oligopéptidos (es decir,
35 compuestos orgánicos que imitan las propiedades de unión a anticuerpo del antígeno de IL-23p19) o combinaciones de los mismos. Se cree que el tamaño mínimo de un epítipo peptídico o polipeptídico para un anticuerpo es de aproximadamente cuatro a cinco aminoácidos. Los epítipos peptídicos o polipeptídicos contienen, por ejemplo, al menos siete aminoácidos o, por ejemplo, al menos nueve aminoácidos o, por ejemplo, entre aproximadamente 15 y aproximadamente 20 aminoácidos. Puesto que un anticuerpo puede reconocer un péptido o polipéptido antigénico en
40 su forma terciaria, no es necesario que los aminoácidos que comprende un epítipo sean contiguos y, en algunos casos, es posible que ni siquiera estén en la misma cadena peptídica. Los epítipos pueden determinarse mediante diversas técnicas conocidas en la técnica, tales como cristalografía de rayos X, espectrometría de masas con intercambio de hidrógeno/deuterio (HXMS), mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis de exploración con alanina y métodos de selección de péptidos.

- 45 Los expertos en la técnica conocen bien la estructura generalizada de anticuerpos o inmunoglobulinas. Estas moléculas son glicoproteínas heterotetraméricas, normalmente de aproximadamente 150.000 Dalton, que se componen de dos cadenas ligeras (L) idénticas y dos cadenas pesadas (H) idénticas, y normalmente se denominan anticuerpos de longitud completa. Cada cadena ligera se une de manera covalente a una cadena pesada mediante
50 un enlace disulfuro para formar un heterodímero, y la molécula heterotetramérica se forma a través de una unión disulfuro entre las dos cadenas pesadas idénticas de los heterodímeros. Aunque las cadenas ligera y pesada se unen juntas mediante un enlace disulfuro, el número de uniones disulfuro entre las dos cadenas pesadas varía en función del isotipo de inmunoglobulina. Cada cadena pesada y ligera también tiene puentes disulfuro intracatenarios regularmente espaciados. Cada cadena pesada tiene, en el extremo amino-terminal, un dominio variable (V_H), seguido de tres o cuatro dominios constantes (C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} y C_{H4}), así como una región bisagra entre C_{H1} y C_{H2} . Cada cadena ligera tiene dos dominios, un dominio variable amino-terminal (V_L) y un dominio constante carboxilo-terminal (C_L). El dominio V_L se asocia de manera no covalente con el dominio V_H , mientras que el dominio C_L habitualmente se une de
55 manera covalente al dominio C_{H1} mediante un enlace disulfuro. Se cree que residuos de aminoácido particulares forman una zona de contacto entre los dominios variables de cadena ligera y pesada (Chothia *et al.*, 1985, J. Mol. Biol. 186:651-663). Los dominios variables también se denominan en el presente documento regiones variables.

- 60 Determinados dominios dentro de los dominios variables difieren extensamente entre diferentes anticuerpos, es decir, son "hipervariables". Estos dominios hipervariables contienen residuos que están directamente implicados en la unión y especificidad de cada anticuerpo particular por su determinante antigénico específico. La hipervariabilidad, tanto en los dominios variables de cadena ligera como en los de cadena pesada, se concentra en tres segmentos conocidos como regiones determinantes de complementariedad (CDR) o bucles hipervariables (HVL). Las CDR se definen
65

mediante comparación de secuencias en Kabat *et al.*, 1991, En: Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., mientras que los HVL (también denominados en el presente documento CDR) se definen estructuralmente según la estructura tridimensional del dominio variable, tal como se describe por Chothia y Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196: 901-917. Estos dos métodos dan como resultado identificaciones ligeramente diferentes de una CDR. Tal como se define por Kabat, la CDR-L1 se posiciona aproximadamente en los residuos 24-34, la CDR-L2 aproximadamente en los residuos 50-56 y la CDR-L3 aproximadamente en los residuos 89-97 en el dominio variable de cadena ligera; la CDR-H1 se posiciona aproximadamente en los residuos 31-35, la CDR-H2 aproximadamente en los residuos 50-65 y la CDR-H3 aproximadamente en los residuos 95-102 en el dominio variable de cadena pesada. El número exacto de residuos que abarca una CDR particular variará dependiendo de la secuencia y el tamaño de la CDR. Los expertos en la técnica pueden determinar de manera rutinaria qué residuos comprende una CDR particular dada la secuencia de aminoácidos de región variable del anticuerpo. Por tanto, la CDR1, CDR2 y CDR3 de las cadenas pesada y ligera definen las propiedades únicas y funcionales específicas para un anticuerpo dado.

Las tres CDR dentro de cada una de las cadenas pesada y ligera están separadas por regiones de entramado (FR), que contienen secuencias que tienden a ser menos variables. Desde el extremo amino-terminal hasta el extremo carboxilo-terminal de los dominios variables de cadena pesada y ligera, las FR y las CDR se disponen en el orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. La configuración en gran parte de lámina β de las FR hace que las CDR dentro de cada una de las cadenas estén en estrecha proximidad entre sí, así como con las CDR de la otra cadena. La conformación resultante contribuye al sitio de unión a antígeno (véase Kabat *et al.*, 1991, publicación de los NIH n.º 91-3242, vol. I, páginas 647-669), aunque no necesariamente todos los residuos de las CDR están directamente implicados en la unión a antígeno.

Los residuos de las FR y los dominios constantes de Ig no están directamente implicados en la unión a antígeno, pero contribuyen a la unión a antígeno y/o median en la función efectora del anticuerpo. Se cree que algunos residuos de las FR tienen un efecto significativo sobre la unión a antígeno en al menos tres formas: mediante unión no covalente directamente a un epítipo, mediante interacción con uno o más residuos de las CDR y mediante afectación a la zona de contacto entre las cadenas pesada y ligera. Los dominios constantes no están directamente implicados en la unión a antígeno pero median en diversas funciones efectoras de Ig, tales como la participación del anticuerpo en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA), la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (FCDA).

Las cadenas ligeras de inmunoglobulinas de vertebrados se asignan a una de dos clases claramente distintas, kappa (κ) y lambda (λ), basándose en la secuencia de aminoácidos del dominio constante. Por comparación, las cadenas pesadas de inmunoglobulinas de mamíferos se asignan a una de cinco clases principales, según la secuencia de los dominios constantes: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. IgG e IgA se dividen a su vez en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan α , δ , ϵ , γ y μ , respectivamente. Se conocen bien las estructuras de las subunidades y las configuraciones tridimensionales de las clases de inmunoglobulinas nativas.

Los términos "anticuerpo", "anticuerpo anti-IL-23p19", "anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado", "anticuerpo de epítipo anti-IL-23p19 humanizado" y "anticuerpo de epítipo anti-IL-23p19 humanizado variante" abarcan específicamente anticuerpos monoclonales (incluyendo anticuerpos monoclonales de longitud completa), anticuerpos policlonales, anticuerpos multispecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) y fragmentos de anticuerpo tales como dominios variables y otras porciones de anticuerpos que muestran una actividad biológica deseada, por ejemplo, la unión a IL-23p19. El término "anticuerpo monoclonal" (AcM) se refiere a un anticuerpo que es altamente específico, que se dirige contra un único determinante antigénico, un "epítipo". Por tanto, el modificador "monoclonal" es indicativo de anticuerpos dirigidos al epítipo idéntico y no debe interpretarse como que requiere la producción del anticuerpo mediante cualquier método particular. Debe entenderse que los anticuerpos monoclonales pueden prepararse mediante cualquier técnica o metodología conocida en la técnica; incluyendo, por ejemplo, el método del hibridoma (Kohler *et al.*, 1975, Nature 256:495), o métodos ADN de recombinante conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 4.816.567), o métodos de aislamiento de anticuerpos monoclonales producidos de manera recombinante usando bibliotecas de anticuerpos de fagos, usando técnicas descritas en Clackson *et al.*, 1991, Nature 352: 624-628, y Marks *et al.*, 1991, J. Mol. Biol. 222: 581-597.

El término "monómero" se refiere a una forma homogénea de un anticuerpo. Por ejemplo, para un anticuerpo de longitud completa, monómero significa un anticuerpo monomérico que tiene dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas.

Los anticuerpos quiméricos consisten en las regiones variables de cadena pesada y ligera de un anticuerpo de una especie (por ejemplo, un mamífero no humano tal como un ratón) y las regiones constantes de cadena pesada y ligera de un anticuerpo de otra especie (por ejemplo, humano), y pueden obtenerse uniendo las secuencias de ADN que codifican para las regiones variables del anticuerpo de la primera especie (por ejemplo, ratón) con las secuencias de ADN para las regiones constantes del anticuerpo de la segunda especie (por ejemplo, humano) y transformando un huésped con un vector de expresión que contiene las secuencias unidas para permitir que produzca un anticuerpo quimérico. Alternativamente, el anticuerpo quimérico también podría ser uno en el que una o más regiones o dominios

de la cadena pesada y/o ligera es/son idéntica(s) a, homóloga(s) a o una variante de la secuencia correspondiente en un anticuerpo monoclonal de otra clase u otro isotipo de inmunoglobulina, o de una secuencia de consenso o de la línea germinal. Los anticuerpos quiméricos pueden incluir fragmentos de tales anticuerpos, siempre que el fragmento de anticuerpo muestre la actividad biológica deseada de su anticuerpo parental, por ejemplo, unión al mismo epítipo (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 4.816.567; y Morrison *et al.*, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855).

Los términos “fragmento de anticuerpo”, “fragmento de anticuerpo anti-IL-23p19”, “fragmento de anticuerpo de epítipo anti-IL-23p19”, “fragmento de anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado”, “fragmento de anticuerpo de epítipo anti-IL-23p19 humanizado variante” se refieren a una porción de un anticuerpo anti-IL-23p19 de longitud completa, en la que se conserva una región variable o una capacidad funcional, por ejemplo, unión específica al epítipo de IL-23p19. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen, pero no se limitan a, un fragmento Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, Fv, scFv y scFv-Fc, un diacuerpo, un anticuerpo lineal, un anticuerpo de cadena sencilla, un minicuerpo, un diacuerpo formado a partir de fragmentos de anticuerpo y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

Los anticuerpos de longitud completa pueden tratarse con enzimas tales como papaína o pepsina para generar fragmentos de anticuerpo útiles. La digestión con papaína se usa para producir dos fragmentos de anticuerpo de unión a antígeno idénticos denominados fragmentos “Fab”, cada uno con un único sitio de unión a antígeno, y un fragmento “Fc” residual. El fragmento Fab también contiene el dominio constante de la cadena ligera y el dominio C_{H1} de la cadena pesada. El tratamiento con pepsina produce un fragmento F(ab')₂ que tiene dos sitios de unión a antígeno y todavía es capaz de reticular el antígeno.

Los fragmentos Fab' difieren de los fragmentos Fab por la presencia de residuos adicionales que incluyen una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo en el extremo C-terminal del dominio C_{H1}. Los fragmentos de anticuerpo F(ab')₂ son pares de fragmentos Fab' unidos por residuos de cisteína en la región bisagra. También se conocen otros acoplamientos químicos de fragmentos de anticuerpo.

El fragmento “Fv” contiene un sitio de unión y reconocimiento de antígeno completo que consiste en un dímero de un dominio variable de cadena pesada y uno de cadena ligera en estrecha asociación no covalente. En esta configuración, las tres CDR de cada dominio variable interactúan para definir un sitio de unión a antígeno en la superficie del dímero V_H-V_L. En conjunto, las seis CDR confieren al anticuerpo especificidad de unión a antígeno.

Un fragmento de anticuerpo “Fv de cadena sencilla” o “scFv” es una variante de Fv de cadena sencilla que comprende los dominios V_H y V_L de un anticuerpo en el que los dominios están presentes en una única cadena polipeptídica. El Fv de cadena sencilla es capaz de reconocer y unirse al antígeno. El polipéptido de scFv también pueden contener opcionalmente un ligador polipeptídico posicionado entre los dominios V_H y V_L con el fin de facilitar la formación de una estructura tridimensional deseada para la unión a antígeno por el scFv (véase, por ejemplo, Pluckthun, 1994, En: The Pharmacology of monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, págs. 269-315).

Un “diacuerpo” se refiere a pequeños fragmentos de anticuerpo con dos sitios de unión a antígeno, fragmentos que comprenden un dominio variable de cadena pesada (V_H) conectado con un dominio variable de cadena ligera (V_L) en la misma cadena polipeptídica (V_H-V_L o V_L-V_H). Los diacuerpos se describen más completamente en, por ejemplo, Holliger *et al.* (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448.

Otros fragmentos de anticuerpo reconocidos incluyen aquellos que comprenden un par de segmentos Fd en tándem (V_H-C_{H1}-V_H-C_{H1}) para formar un par de regiones de unión a antígeno. Estos “anticuerpos lineales” pueden ser biespecíficos o monoespecíficos tal como se describe en, por ejemplo, Zapata *et al.* 1995, Protein Eng. 8(10):1057-1062.

Un “anticuerpo humanizado” o un “fragmento de anticuerpo humanizado” es un tipo específico de anticuerpo quimérico que incluye una variante de secuencia de aminoácidos de inmunoglobulina, o un fragmento de la misma, que es capaz de unirse a un antígeno predeterminado y que comprende una o más FR que tienen sustancialmente la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina humana y una o más CDR que tienen sustancialmente la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina no humana. Esta secuencia de aminoácidos no humana, a menudo denominada secuencia “de importación”, se toma normalmente de un dominio de anticuerpo “de importación”, particularmente un dominio variable. En general, un anticuerpo humanizado incluye al menos las CDR o los HVL de un anticuerpo no humano insertados entre las FR de un dominio variable de cadena pesada o ligera humano. La presente divulgación describe anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados específicos que contienen CDR derivadas de los anticuerpos monoclonales de ratón o las CDR humanizadas mostradas en las tablas 3 y 4 insertadas entre las FR de dominios variables de cadena pesada y ligera de la secuencia de la línea germinal humana. Se entenderá que determinados residuos de FR de ratón pueden ser importantes para la función de los anticuerpos humanizados y, por tanto, se modifican determinados residuos de los dominios variables de cadena pesada y ligera de la secuencia de la línea germinal humana para que sean iguales a los de la secuencia de ratón correspondiente.

En otro aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado comprende sustancialmente todos de al menos uno, y normalmente dos, dominios variables (tal como contenidos, por ejemplo, en los fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂, Fabc y Fv) en el que todas, o sustancialmente todas, las CDR corresponden a aquellas de una inmunoglobulina no humana, y específicamente en el presente documento, todas las CDR son secuencias de ratón o humanizadas tal como se
 5 detalle en las tablas 1 a 4 a continuación en el presente documento y todas, o sustancialmente todas, las FR son aquellas de una secuencia de consenso o de la línea germinal de inmunoglobulina humana. En otro aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado también incluye al menos una porción de una región Fc de inmunoglobulina, normalmente la de una inmunoglobulina humana. Habitualmente, el anticuerpo contendrá tanto la cadena ligera así como al menos el dominio variable de una cadena pesada. El anticuerpo también puede incluir una o más de las
 10 regiones C_{H1}, bisagra, C_{H2}, C_{H3} y/o C_{H4} de la cadena pesada, según sea apropiado.

Un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado puede seleccionarse de cualquier clase de inmunoglobulinas, incluyendo IgM, IgG, IgD, IgA e IgE, y cualquier isotipo, incluyendo IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂. Por ejemplo, el dominio constante puede ser un dominio constante de fijación al complemento en el que es deseable que el anticuerpo
 15 humanizado muestre actividad citotóxica, y el isotipo es normalmente IgG₁. Cuando tal actividad citotóxica no es deseable, el dominio constante puede ser de otro isotipo, por ejemplo, IgG₂. Un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado alternativo puede comprender secuencias de más de una clase o un isotipo de inmunoglobulina, y la selección de dominios constantes particulares para optimizar las funciones efectoras deseadas se encuentra dentro de la experiencia habitual en la técnica. En aspectos específicos, la presente divulgación proporciona anticuerpos que son
 20 anticuerpos IgG₁, y más particularmente son anticuerpos IgG₁ en los que existe una inactivación de las funciones efectoras.

No es necesario que las FR y las CDR, o los HVL, de un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado correspondan precisamente a las secuencias parentales. Por ejemplo, pueden alterarse (por ejemplo, mutagenizarse) uno o más
 25 residuos en la CDR, o el HVL, de importación o la secuencia de FR de consenso o de la línea germinal por sustitución, inserción o delección, de tal manera que el residuo de aminoácido resultante ya no es idéntico al residuo original en la posición correspondiente en cualquier secuencia parental pero, no obstante el anticuerpo conserva la función de unión a IL-23p19. Normalmente, tal alteración no será extensa y serán alteraciones conservadoras. Habitualmente, al menos el 75% de los residuos del anticuerpo humanizado corresponderán a los de las secuencias de CDR de importación y
 30 de FR de consenso o de la línea germinal parentales y, con más frecuencia, al menos el 90%, y lo más frecuentemente más del 95%, o más del 98%, o más del 99%.

Los residuos de inmunoglobulina que afectan a la zona de contacto entre regiones variables de cadena pesada y ligera ("la zona de contacto V_L-V_H") son aquellos que afectan a la proximidad u orientación de las dos cadenas una con respecto a la otra. Determinados residuos que pueden estar implicados en interacciones intercatenarias incluyen los
 35 residuos 34, 36, 38, 44, 46, 87, 89, 91, 96 y 98 de V_L y los residuos 35, 37, 39, 45, 47, 91, 93, 95, 100 y 103 de V_H (utilizando el sistema de numeración expuesto en Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987)). La patente estadounidense n.º 6.407.213 también comenta que, en esta interacción, también pueden estar implicados residuos tales como los residuos 43 y 85 de V_L y los residuos
 40 43 y 60 de V_H. Aunque estos residuos se indican sólo para IgG humana, son aplicables a todas las especies. Se seleccionan residuos importantes del anticuerpo, que se espera razonablemente que estén implicados en interacciones intercatenarias, para su sustitución en la secuencia de consenso.

Los términos "secuencia de consenso" y "anticuerpo de consenso" se refieren a una secuencia de aminoácidos que
 45 comprende los residuos de aminoácido que aparecen con la mayor frecuencia en cada ubicación en todas las inmunoglobulinas de cualquier clase, isotipo o estructura de subunidad particular, por ejemplo, un dominio variable de inmunoglobulina humana. La secuencia de consenso puede estar basada en inmunoglobulinas de una especie particular o de muchas especies. Se entiende que una secuencia, una estructura o un anticuerpo "de consenso" abarcan una secuencia de consenso humana tal como se describe en determinadas realizaciones y se refieren a una
 50 secuencia de aminoácidos que comprende los residuos de aminoácido que aparecen con la mayor frecuencia en cada ubicación en todas las inmunoglobulinas humanas de cualquier clase, isotipo o estructura de subunidad particular. Por tanto, la secuencia de consenso contiene una secuencia de aminoácidos que tiene, en cada posición, un aminoácido que está presente en una o más inmunoglobulinas conocidas, pero que puede no duplicar exactamente la secuencia de aminoácidos completa de cualquier inmunoglobulina individual. La secuencia de consenso de región variable no se obtiene a partir de ningún anticuerpo ni de ninguna inmunoglobulina producidos de manera natural. Kabat *et al.*, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., y variantes del mismo. Las FR de las secuencias de consenso de cadena pesada y ligera, y variantes de las mismas, proporcionan secuencias útiles para la preparación de anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados. Véase, por
 55 ejemplo, las patentes estadounidenses n.ºs 6.037.454 y 6.054.297.

Las secuencias de la línea germinal humanas se hallan de manera natural en la población humana. Una combinación de esos genes de la línea germinal genera diversidad de anticuerpos. Las secuencias de anticuerpo de la línea germinal para la cadena ligera del anticuerpo proceden de genes ν y genes j kappa o lambda de la línea germinal humana conservados. De manera similar, las secuencias de cadena pesada proceden de genes ν , d y j de la línea
 60 germinal (LeFranc, M-P y LeFranc, G, "The Immunoglobulin Facts Book" Academic Press, 2001).

Tal como se usa en el presente documento, “variante”, “variante anti-IL-23p19”, “variante anti-IL-23p19 humanizada”, o “anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado variante” se refieren, cada uno, a un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado que tiene al menos una CDR murina variable de cadena ligera de cualquiera de las secuencias tal como se muestra en la tabla 1 o una secuencia de CDR murina de cadena pesada derivada del anticuerpo monoclonal murino tal como se muestra en la tabla 2. Las variantes incluyen aquellas que tienen uno o más cambios de aminoácidos en uno o ambos dominios variables de cadena ligera o cadena pesada, siempre que el cambio de aminoácidos no altere sustancialmente la unión del anticuerpo a IL-23p19. Los anticuerpos humanizados a modo de ejemplo producidos en el presente documento incluyen aquellos designados como anticuerpo A, anticuerpo B, anticuerpo C y anticuerpo D, y las diversas cadenas ligeras y cadenas pesadas de los mismos se muestran en las SEQ ID NO:174 y 180 y las SEQ ID NO:176 y 178, respectivamente.

Un anticuerpo “aislado” es uno que se ha identificado y separado y/o recuperado a partir de un componente de su entorno natural. Componentes contaminantes del entorno natural del anticuerpo son aquellos materiales que pueden interferir con los usos diagnósticos o terapéuticos del anticuerpo, y pueden ser enzimas, hormonas u otro solutos proteicos o no proteicos. En un aspecto, el anticuerpo se purificará hasta al menos más del 95% de aislamiento por peso de anticuerpo.

Un anticuerpo aislado incluye un anticuerpo *in situ* dentro de células recombinantes en las que se produce, puesto que al menos un componente del entorno natural del anticuerpo no estará presente. Sin embargo, habitualmente, un anticuerpo aislado se preparará mediante al menos una etapa de purificación en la que se retira el material celular recombinante.

El término “rendimiento de anticuerpo” se refiere a factores que contribuyen al reconocimiento del antígeno por parte del anticuerpo o a la eficacia de un anticuerpo *in vivo*. Los cambios en la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo pueden afectar a propiedades del anticuerpo tales como el plegamiento, y pueden influir en factores físicos tales como la tasa inicial de unión del anticuerpo al antígeno (k_a), la constante de disociación del anticuerpo a partir del antígeno (k_d), la constante de afinidad del anticuerpo por el antígeno (K_d), la conformación del anticuerpo, la estabilidad de la proteína y la semivida del anticuerpo.

El término “etiquetado con epítipo”, cuando se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 fusionado con una “etiqueta de epítipo”. Una “etiqueta de epítipo” es un polipéptido que tiene un número suficiente de aminoácidos para proporcionar un epítipo para la producción de anticuerpos, pero que está diseñado de tal manera que no interfiere con la actividad deseada del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado.

Habitualmente, la etiqueta de epítipo es suficientemente única, de tal manera que un anticuerpo generado contra la etiqueta de epítipo no presenta una reacción cruzada sustancial con otros epítopos. Los polipéptidos con etiqueta adecuados contienen generalmente al menos 6 residuos de aminoácido y contienen habitualmente de aproximadamente 8 a 50 residuos de aminoácido, o de aproximadamente 9 a 30 residuos. Los ejemplos de etiquetas de epítipo y del anticuerpo que se une al epítipo incluyen el polipéptido con etiqueta HA flu y su anticuerpo 12CA5 (Campo *et al.*, 1988 Mol. Cell. Biol. 8: 2159-2165; la etiqueta c-myc y los anticuerpos 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 y 9E10 (Evan *et al.*, 1985, Mol. Cell. Biol. 5(12):3610-3616; y la etiqueta de la glicoproteína D (gD) del virus del herpes simple y su anticuerpo (Paborsky *et al.* 1990, Protein Engineering 3(6): 547-553). En determinadas realizaciones, la etiqueta de epítipo es un “epítipo de unión a receptor de rescate”. Tal como se usa en el presente documento, el término “epítipo de unión a receptor de rescate” se refiere a un epítipo de la región Fc de una molécula de IgG (tal como IgG₁, IgG₂, IgG₃ o IgG₄) que es responsable de aumentar la semivida sérica *in vivo* de la molécula de IgG.

En algunos aspectos, los anticuerpos de la presente divulgación pueden conjugarse con un agente citotóxico. Este es cualquier sustancia que inhibe o impide la función de células y/o provoca la destrucción de células. Se pretende que el término incluya isótopos radiactivos (tales como I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰ y Re¹⁸⁶), agentes quimioterápicos y toxinas tales como toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, y fragmentos de las mismas. Tales agentes citotóxicos pueden acoplarse a los anticuerpos humanizados de la presente divulgación usando procedimientos convencionales, y usarse, por ejemplo, para tratar a un paciente indicado para terapia con el anticuerpo.

Un “agente quimioterápico” es un compuesto químico útil en el tratamiento de cáncer. Existen numerosos ejemplos de agentes quimioterápicos que podrían conjugarse con los anticuerpos terapéuticos de la presente invención. Los ejemplos de tales agentes quimioterápicos incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida; alquil sulfonatos tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carbocadona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilmelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilenfosforamida y trimetilolmelamina; acetogeninas (especialmente bulatacina y bulatacinona); camptotecina (incluyendo el análogo sintético topotecán); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina, auristatinas (incluyendo los análogos monometil-auristatina E y monometil-auristatina F); duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos KW-2189 y CBI-TMI); eleuterobina; pancratistatina; sarcodictina; espongistatina; mostazas de nitrógeno tales como clorambucilo, clomafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembicina, fenesterina, prednimustina; trofosfamida, mostaza de uracilo;

nitrosoureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enedina (por ejemplo, caliqueamicina, especialmente caliqueamicina gamma11 y caliqueamicina phil1, véase, por ejemplo, Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33:183-186; dinemicina, incluyendo dinemicina A; bisfosfonatos, tales como clodronato; esperamicina; así como cromóforo de neocarzinostatina y cromóforos antibióticos de la cromoproteína enedina relacionados), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, caminomicina, carcinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina (Adriamycin™) (incluyendo morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina y desoxidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiomicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; antimetabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitiostano, testolactona; antiadrenérgicos tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; suministrador de ácido fólico tal como ácido frolínico; aceglatona; glicósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; democolcina; diazicuona; elfomitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglucida; nitrato de galio; hidroxurea; lentinano; lonidamina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona, mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; PSK®; razoxano; rizoxina; sizofurano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-trichlorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitabronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por ejemplo, paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.) y docetaxel (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, Francia); clorambucilo; gemcitabina (Gemzar™); 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; etopósido de platino (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina (Navelbine™); novantrona; tenipósido; edatrexato; daunomicina; aminopterina; Xeloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; capecitabina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. También se incluyen en esta definición agentes antihormonales que actúan para regular o inhibir la acción de las hormonas sobre los tumores, tales como antiestrógenos y moduladores selectivos del receptor de estrógenos (MSRE), incluyendo, por ejemplo, tamoxifeno (incluyendo Nolvadex™), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y toremifeno (Fareston™); inhibidores de aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógenos en las glándulas suprarrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, acetato de megestrol (Megace™), exemestano, formestano, fadrozol, vorozol (Rivisor™), letrozol (Femara™) y anastrozol (Arimidex™); y antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. Uno cualquiera o más de estos agentes pueden conjugarse con los anticuerpos humanizados de la presente divulgación para proporcionar un agente terapéutico útil para el tratamiento de diversos trastornos.

Los anticuerpos también pueden conjugarse con profármacos. Un "profármaco" es una forma precursora o derivada de una sustancia farmacéuticamente activa que es menos citotóxica para las células tumorales en comparación con el fármaco parental y que es capaz de activarse o convertirse enzimáticamente en la forma más activa. Véase, por ejemplo, Wilman, 1986, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy", En: Biochemical Society Transactions, 14, págs. 375-382, 615ª Meeting Belfast y Stella *et al.*, 1985, "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery, En: "Directed Drug Delivery, Borchardt *et al.*, (ed.), págs. 247-267, Humana Press. Los profármacos útiles incluyen, pero no se limitan a, profármacos que contienen fosfato, profármacos que contienen tiofosfato, profármacos que contienen sulfato, profármacos que contienen péptidos, profármacos modificados con D-aminoácidos, profármacos glicosilados, profármacos que contienen β-lactamas, profármacos que contienen fenoxiacetamida opcionalmente sustituida y profármacos que contienen fenilacetamida opcionalmente sustituida, profármacos de 5-fluorocitosina y otros profármacos de 5-fluorouridina que pueden convertirse en el fármaco libre citotóxico más activo. Los ejemplos de fármacos citotóxicos que pueden derivatizarse en una forma de profármaco incluyen, pero no se limitan a, aquellos agentes quimioterápicos descritos anteriormente.

Para propósitos de monitorización diagnóstica así como terapéutica, los anticuerpos de la divulgación también pueden conjugarse con un marcador, ya sea un marcador solo o un marcador y un segundo agente adicional (profármaco, agente quimioterápico y similares). Un marcador, a diferencia de los otros segundos agentes, se refiere a un agente que es un compuesto o una composición detectable y que puede conjugarse directa o indirectamente con un anticuerpo humanizado de la presente divulgación. El marcador puede ser detectable por sí mismo (por ejemplo, marcadores radioisotópicos o marcadores fluorescentes) o, en el caso de un marcador enzimático, puede catalizar la alteración química de un compuesto o una composición sustrato que es detectable. Un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado marcado puede prepararse y usarse en diversas aplicaciones, incluyendo el diagnóstico *in vitro* e *in vivo*.

Los anticuerpos de la presente divulgación pueden formularse como parte de una preparación liposómica con el fin de afectar al suministro de los mismos *in vivo*. Un "liposoma" es una pequeña vesícula que se compone de diversos tipos de lípidos, fosfolípidos y/o tensioactivos. Los liposomas son útiles para el suministro de un compuesto o una

formulación a un mamífero, tal como un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado divulgado en el presente documento, opcionalmente acoplado o en combinación con uno o más marcadores y/o agentes farmacéuticamente activos. Los componentes del liposoma se disponen habitualmente en una formación de bicapa, similar a la disposición lipídica de las membranas biológicas.

Determinados aspectos se refieren a ácidos nucleicos aislados que codifican para uno o más dominios de los anticuerpos humanizados de la presente invención. Una molécula de ácido nucleico "aislada" es una molécula de ácido nucleico que se identifica y separa de al menos una molécula de ácido nucleico contaminante con la que está asociada habitualmente en la fuente natural del ácido nucleico del anticuerpo. Una molécula de ácido nucleico aislada se distingue de la molécula de ácido nucleico en que existe en células naturales.

En diversos aspectos de la presente memoria descriptiva, uno o más dominios de los anticuerpos humanizados se expresarán de manera recombinante. Tal expresión recombinante puede emplear una o más secuencias de control, es decir, secuencias de polinucleótido necesarias para la expresión de una secuencia codificante operativamente unida en un organismo huésped particular. Las secuencias de control adecuadas para su uso en células procariotas incluyen, por ejemplo, secuencias promotoras, operadoras y de sitio de unión al ribosoma. Las secuencias de control eucariotas incluyen, pero no se limitan a, promotores, señales de poliadenilación y potenciadores. Estas secuencias de control pueden utilizarse para la expresión y producción de un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado en células huésped procariotas y eucariotas.

Una secuencia de ácido nucleico está "operativamente unida" cuando se coloca en una relación funcional con otra secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, una presecuencia de ácido nucleico o un líder secretor está operativamente unido a un ácido nucleico que codifica para un polipéptido si se expresa como preproteína que participa en la secreción del polipéptido; un promotor o potenciador está operativamente unido a una secuencia codificante si afecta a la transcripción de la secuencia; o un sitio de unión al ribosoma está operativamente unido a una secuencia codificante si se posiciona para facilitar la traducción. Generalmente, "operativamente unido" significa que las secuencias de ADN que están uniéndose son contiguas y, en el caso de un líder secretor, contiguas y en marco de lectura. Sin embargo, los potenciadores son opcionalmente contiguos. La unión puede lograrse mediante ligamiento a sitios de restricción convenientes. Si no existen tales sitios, pueden usarse ligadores o adaptadores oligonucleotídicos sintéticos.

Tal como se usa en el presente documento, las expresiones "célula", "línea celular" y "cultivo celular" se usan de manera intercambiable, y todas de tales designaciones incluyen la progenie de los mismos. Por tanto, "transformantes" y "células transformadas" incluyen la célula objeto principal y cultivos derivados de la misma sin tener en cuenta el número de transferencias.

El término "mamífero", para los propósitos de tratamiento, se refiere a cualquier animal clasificado como mamífero, incluyendo humanos, animales domesticados y de granja y animales de zoológico, de actividades deportivas o mascotas, tales como perros, caballos, gatos, vacas y similares. Preferiblemente, el mamífero es un humano.

Un "trastorno", tal como se usa en el presente documento, es cualquier estado que se beneficiaría del tratamiento con un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado descrito en el presente documento. Este incluye trastornos o enfermedades crónicos y agudos, incluyendo aquellos estados patológicos que predisponen al mamífero al trastorno en cuestión. Los ejemplos a modo de ejemplo o trastornos que van a tratarse en el presente documento incluyen trastornos inflamatorios, angiogénicos, autoinmunitarios e inmunológicos, trastornos respiratorios, cáncer, neoplasias malignas hematológicas, tumores benignos y malignos, leucemias y neoplasias malignas linfoides.

Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren a o describe el estado fisiológico en mamíferos que normalmente se caracteriza por un crecimiento celular desregulado. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero no se limitan a, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia.

Tal como se usa en el presente documento, el término "trastorno asociado a IL-23" o "enfermedad asociada a IL-23" se refiere a un estado en el que la actividad de IL-23 contribuye a la enfermedad y normalmente en el que la IL-23 se expresa de manera anómala. Un trastorno asociado a IL-23 incluye enfermedades y trastornos del sistema inmunitario, tales como trastornos autoinmunitarios y trastornos inflamatorios. Tales estados incluyen, pero no se limitan a, artritis reumatoide (AR), lupus eritematoso sistémico (LES), esclerodermia, síndrome de Sjögren, esclerosis múltiple, psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad inflamatoria intestinal (por ejemplo, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), inflamación pulmonar, asma, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI) y espondiloartritis, por ejemplo, espondilitis anquilosante, espondiloartritis axial no radiográfica o espondiloartritis periférica.

El término "infusión intravenosa" se refiere a la introducción de un agente en la vena de un paciente animal o humano a lo largo de un periodo de tiempo mayor de aproximadamente 15 minutos, generalmente de entre aproximadamente 30 y 90 minutos.

El término "bolo intravenoso" o "pulso intravenoso" se refiere a la administración de fármaco en una vena de un animal o humano de tal manera que el cuerpo recibe el fármaco en aproximadamente 15 minutos o menos, generalmente en 5 minutos o menos.

El término “administración subcutánea” se refiere a la introducción de un agente debajo de la piel de un paciente animal o humano, preferiblemente dentro de un bolsillo entre la piel y el tejido subyacente, mediante suministro sostenido relativamente lento a partir de un receptáculo de fármaco. Pellizcar o tirar de la piel hacia arriba y lejos del tejido subyacente puede crear el bolsillo.

El término “infusión subcutánea” se refiere a la introducción de un fármaco debajo de la piel de un paciente animal o humano, preferiblemente dentro de un bolsillo entre la piel y el tejido subyacente, mediante suministro sostenido relativamente lento a partir de un receptáculo de fármaco durante un periodo de tiempo que incluye, pero sin limitarse a, 30 minutos o menos, o 90 minutos o menos. Opcionalmente, la infusión puede realizarse mediante la implantación subcutánea de una bomba de suministro de fármaco implantada debajo de la piel del paciente animal o humano, en la que la bomba suministra una cantidad predeterminada de fármaco durante un periodo de tiempo predeterminado, tal como 30 minutos, 90 minutos o un periodo de tiempo que abarca la duración del régimen de tratamiento.

El término “bolo subcutáneo” se refiere a la administración de fármaco debajo de la piel de un paciente animal o humano, en la que el suministro de fármaco en bolo es menor de aproximadamente 15 minutos; en otro aspecto, menor de 5 minutos, y en todavía otro aspecto, menor de 60 segundos. En aún incluso otro aspecto, la administración es dentro de un bolsillo entre la piel y el tejido subyacente, en la que el bolsillo puede crearse pellizcando o tirando de la piel hacia arriba lejos del tejido subyacente.

El término “cantidad terapéuticamente eficaz” se usa para referirse a una cantidad de un agente activo que alivia o mejora uno o más de los síntomas del trastorno que está tratándose. En otro aspecto, la cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a una concentración sérica objetivo que se ha demostrado que es eficaz en, por ejemplo, ralentizar el avance de la enfermedad. La eficacia puede medirse de manera convencional, dependiendo del estado que va a tratarse.

Se pretende que los términos “tratamiento” y “terapia”, y similares, tal como se usan en el presente documento, incluyan medidas terapéuticas así como profilácticas o supresoras para una enfermedad o un trastorno que conducen a cualquier efecto clínicamente deseable o beneficioso, incluyendo, pero sin limitarse a, alivio o mitigación de uno o más síntomas, remisión, ralentización o cese del avance de la enfermedad o el trastorno. Por tanto, por ejemplo, el término tratamiento incluye la administración de un agente antes o después de la aparición de un síntoma de una enfermedad o un trastorno, previniendo o eliminando de ese modo uno o más signos de la enfermedad o el trastorno. Como otro ejemplo, el término incluye la administración de un agente después de la manifestación clínica de la enfermedad para combatir los síntomas de la enfermedad. Además, la administración de un agente después de la aparición y después de haberse desarrollado los síntomas clínicos cuando la administración afecta a los parámetros clínicos de la enfermedad o el trastorno, tales como el grado de lesión tisular o la cantidad o extensión de metástasis, ya sea que el tratamiento conduzca o no a la mejora de la enfermedad, comprende el “tratamiento” o la “terapia” tal como se usa en el presente documento. Además, siempre que las composiciones de la invención, ya sean solas o en combinación con otro agente terapéutico, alivien o mejoren al menos un síntoma de un trastorno que está tratándose en comparación con ese síntoma en ausencia de uso de la composición de anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado, el resultado debe considerarse un tratamiento eficaz del trastorno subyacente independientemente de si se alivian o no todos los síntomas del trastorno.

El término “prospecto” se usa para referirse a instrucciones habitualmente incluidas en envases comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, el uso, la administración, las contraindicaciones y/o las advertencias en cuanto al uso de tales productos terapéuticos.

Anticuerpos

En un aspecto, en el presente documento se describen y divulgan anticuerpos anti-IL-23, en particular anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados, y composiciones y artículos de fabricación que comprenden uno o más anticuerpos anti-IL-23, en particular uno o más anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados de la presente invención. También se describen agentes de unión que incluyen un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-23, en particular un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado. Los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados y los agentes de unión pueden inhibir la producción de citocinas asociadas a Th17, que contribuyen a enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias crónicas. Por tanto, los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados y los agentes de unión pueden usarse en el tratamiento de una variedad de enfermedades o trastornos. Un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado y un agente de unión a IL-23p19 incluyen, cada uno, al menos una porción que reconoce específicamente un epítipo de IL-23p19 (es decir, un fragmento de unión a antígeno).

En la caracterización inicial, los anticuerpos de ratón se seleccionaron basándose en la caracterización de unión a IL-23p19.

Por consiguiente, en un aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación tiene una K_D para IL-23, en particular IL-23 humana, de menos de 100 pM. En otro aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación tiene una K_D de menos de 40 pM. En otro aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación tiene una K_D de menos de 20 pM. En otro aspecto,

un anticuerpo de la presente divulgación tiene una K_D de menos de 10 pM. En otro aspecto, un anticuerpo monoclonal de la presente divulgación tiene una K_D de menos de 1 pM.

5 Los anticuerpos de ratón seleccionados tienen las siguientes regiones variables de cadena ligera y regiones variables de cadena pesada tal como se muestra en las tablas 1 y 2:

Tabla 1: Anticuerpos anti-IL-23p19 de ratón de partida - Secuencias de VK

2D1vk	GACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGGTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAG AGGGCCACCATATCCTGCAGAACCAGTGAAAGTGTTTATAGTTATGGCCAA AATTTTATACACTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCACCCAACTCCTC ATCTATCGTGCATCCAACCTGGAATCTGGGATCCCTGCCAGGTTTCAGTGGC AGTGGGTCTAGGACAGACTTCACCCTCACCATGAATCCTGTGGAGGCTGAT GATGTTGCAACCTATTACTGTCAGCAAACTAATGAGGATCCGTACACGTTT GGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAGA (SEQ ID NO:83)
	DIVLTQSPGSLAVSLGQRATISCRSESVYSYGQNFHWHYQQKPGQPPKLL IYRASNLESGIPARFSGSGSRDFTLTMPVEADDVATYYCQQTNEPDYTF GGGTKLEIR (SEQ ID NO:84)
6B8Vk	GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAATTCTTGTCACATCAGTGGGAGAC AGGGTCACCATCACTTGCAAGGCCAGTCGGGATGTGGCTATTGCTGTAGCC TGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAACTACTTCTTTCTGGGCA TCCACCCGACACACTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTCGG ACAGATTTCACTCTCACCATTAGCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAT TATTTCTGTCACCAATATAGCAGCTATCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACA AAGTTGGAAATAAAG (SEQ ID NO:85)
	DIVMTQSHKFLSTSVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGQSPKLLLEFWA STRHTGVPDRFTGSGSRDFTLTISNVQSEDLADYFCHQYSSYPFTFGSGT KLEIK (SEQ ID NO:86)
9D12-Vk	GACATTGCGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTGGGGCAG AGGGCCACCATATCCTGCAGAGCCAGTGAAACTATTAATTTTATGGCACT AGTTTTATGCACTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGTCACCCAACTCCTC ATCTATCGTGCATCCAACCTAGAATCTGGGATCCCTGCCAGGTTTCAGTGGC AGTGGGTCTAGGACAGACTTCACCCTCACCATTAATCCTGTGGAGGCTGAT GATGTTGCAACCTATTACTGTCAGCAAACTAATGAGGATCCGTACACGTTT GGAGGGGGGACTAAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:87)
	DIALTQSPASLAVSLGQRATISCRASETINFGTSFMHWYQQKPGQSPKLL IYRASNLESGIPARFSGSGSRDFTLTINPVEADDVATYYCQQTNEPDYTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:88)
15C11vk	GATGTTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGAGAT CAAGCCTCCATCTCTTGCAAGTCTAGTCAGAGCCTTGTACACAGTAATGGA AACACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTC CTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTTCAGT GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAACAGAGTGGAGGCT GAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACATGTTCCGTACACG TTCGGAGGGGGGACCCAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:89)

	DVVMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKINRVEAEDLGVIYFCSQSTHVPYTFGGGTQLEIK (SEQ ID NO:90)
15F1vk	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSIDYLYWYQKSHESPRLLIKYASQSIGIPSRFSGSGSGSDFTLTINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:91)
18D3vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGATAGAGTCTCTCTTTCTGCAGGGCCAGTCAGAGTATTAGCGACTACTTATAC TGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATTTGCT TCCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGG TCAGATTTCACTCTCAGTATCGACAGTGTGGAACCTGATGATGTTGGAGTC TTTTCTGTCAAATGGTCACAGCTTTCCGTTACGTTCCGAGGGGGGACC AAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:92)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSIDYLYWYQKSHESPRLLIKFASQSIGIPSRFTGSGSGSDFTLSIDSVEPDDVGVFFCQNGHSFPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:93)
18C4vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGATAGAGTCTCTCTTTCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGAGTACTTACAC TGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATATGCT TCCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGG TCAGATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTGGAGTG TATTACTGTCAAATGGTCACAGCTTTCCATTACGTTCCGGCTCGGGGACA AAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:94)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISEYLYWYQKSHESPRLLIKYASQSIGIPSRFSGSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:95)
18E5vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGATAGAGTCTCTCTTTCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGACTACTTATAC TGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATTTGCT TCCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGG TCAGATTTCACTCTCAGTATCGACAGTGTGGAACCTGATGATGTTGGAGTC TTTTCTGTCAAATGGTCACAGCTTTCCGTTACGTTCCGAGGGGGGACC AAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:96)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSIDYLYWYQKSHESPRLLIKFASQSIGIPSRFTGSGSGSDFTLSIDSVEPDDVGVFFCQNGHSFPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:97)

20E8vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGAT AGAGTCTCTCTTTCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGAGTATTTACAC TGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATATGCT TCCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTTCACTGGCAGTGGATCAGGG TCAGATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTGGAGTT TATTACTGTCAAAATGGTCACAGCTTTCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACA AAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:98)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISEYLHWYQQKSHESPRLLIKYA SQSISGIPSRFSGSGSGSDFTLINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPFTFGSGT KLEIK (SEQ ID NO:99)
22E2vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGAT AGAGTCTCTCTCTCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGTCTACTTACAC TGGTATCAACAAAAATCACCTGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATATGCT TCCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTTCACTGGCAGTGGATCAGGG TCAGATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTGGAGTT TATTACTGTCAAAATGGTCACAGCTTTCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACA AAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:100)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSVYLHWYQQKSPESPRLLIKYA SQSISGIPSRFSGSGSGSDFTLINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPFTFGSGT KLEIK (SEQ ID NO:101)
24A54vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAAAT AGAGTCTCTCTTTCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGACTACTTACAC TGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATATGCT TCCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTTCACTGGCAGTGGATCAGGG TCAAATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTGGAGTG TATTATTGTCAAAATGGTCACAGCTTTCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACA AAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:102)
	DIVMTQSPATLSVTPGNRVSLSCRASQSIDYLHWYQQKSHESPRLLIKYA SQSISGIPSRFSGSGSGSNFTLINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPFTFGSGT KLEIK (SEQ ID NO:103)
26F7vk	GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTGCTTCCTTAGCTGTTTCTCTGGGGCAG AGGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAGCAAAAGTGTGAGATTCTCTGACTAT TTTTATATGCACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAACTCCTC ATCTACCTTGCATCCAACCTAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTTCACTGGC AGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAG GATGCTGCAACCTATTACTGTGAGAACAGTAGGGAGCTTCCGTACACGTTT GGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATAAAA (SEQ ID NO:104)
	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVRFSDYFYMHWYQQKPGQPPKLL IYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQNSRELPTYF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:105)

27G8vk	GACATTGTGTTGACACAGTCTCCTGCTTCCTTAGCTGTATCTCTGGGGCAG AGGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAGCAAAAAGTGTCAGTACATCTGGCTAT AGTTATATACACTGGTACCAACAGAAACCGGGACAGCCACCCAAATTCCTC ATCTATCTTGCATCCAACCTAGATTCTGGGGTCCCTGCCAGGTTTCAGTGGC AGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAG GATGCTGCAACCTATTACTGTGTCAGCACAGTAGGGAGCTTCCGTACACGTTT GGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:106)
	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYIHWYQQKPGQPPLKFL IYLASNLDSGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPLYTF GGGKLEIK (SEQ ID NO:107)
31H9vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGAT AGAGTCTCTCTTTCCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGACTACTTACAC TGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAATATGCT TCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGG TCAGATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTGGAGTG TATTACTGTCAAAATGGTCACAGCTTTCGGTACACGTTCCGAGGGGGGACC AAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:108)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISDYLHWYQQKSHESPRLLIKYA SQSISGIPSRFSGSGSGSDFTLINSVEPEDVGYYCQNGHSFPYTFGGGT KLEIK (SEQ ID NO:109)
34G3Vk	GATGTTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGAT CAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGACACAGTAATGGA AACACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTC CTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCCGACAGGTTTCAGT GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCT GAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACATGTTCCGTACACG TTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAT (SEQ ID NO:110)
	DVVMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLL LIYKVSNRFSGVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPYT FGGGTKLEIN (SEQ ID NO:111)
34D9Vk	GACATTATGATGACCCAGTCTCACAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGAC AGGGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGGGTAATGCTGTGGTC TGGTATCAACAAAAACCAGGGCAATCTCCTAAACTACTGATTTACTGGGCA TCCACCCGGCACATTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATTACCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAT TATTTCTGTGAGCAATATAGCAGCTATCTCACGTTCCGTGCTGGGACCAAG CTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO:112)
	DIMMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGNVWVYQQKPGQSPKLLIYWA STRHIGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSEDLADYFCQQYSSYLTFGAGTK LELK (SEQ ID NO:113)

43F5vk	GATGTTGTGATGACCCAATCTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGAT CAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACAGTAATGGA AACACCTATCTACATTGGTACCTGCTGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTC CTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCACT GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCT GAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACATGTTCCGTACACG TTCGGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:114)
	DVVMTQSPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLLKPGQSPKL LIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:115)
73H10vk	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGTTTTCTGTCTGCATCTGTGGGAGAA ACTGTCACCATCACATGTCGAGCAAGTGAGAATATTGACAGTTATTTAGCA TGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTTTGCTGCA CGAAACTTAGCAGATGGTGTGCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGC ACACAGTATTCTCTCAAGATCAACAGAATGCAGTCTGAAGATGTTGCGAGA TACTACTGTCAACATTATTATAGTACTCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACA AAGTTGGAAATAGAA (SEQ ID NO:116)
	DIQMTQSPVFLSASVGETVTITCRASENIDSYLAWYQQKQKSPQLLVFAA RNLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINRMQSEDVARYYCQHYSTPFTFGSGT KLEIE (SEQ ID NO:117)
74H3Vk	GACATCCAGATGACTCAGTCGCCAGCTTCCCTGTCTGCATCTGTGGGAGAA ACTGTCATCTTCACATGTCGAGCAAGTGAGAATATTGACAGTTATTTAGCA TGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTATGCTGCA ACAACTTAGCAGATGGTGTGCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGC ACACAGTATTCTCTCAAGATCAACAGCCTGCAGTCTGAAGATGTTGCGAGA TATTACTGTCTACATTATTATAGTACTCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACA GAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:118)
	DIQMTQSPASLSASVGETVIFTCRASENIDSYLAWYQQKQKSPQLLVYAA TNLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCLHYSTPFTFGSGT ELEIK (SEQ ID NO:119)

Tabla 2: Anticuerpos anti-IL-23p19 de ratón de partida - Secuencias de VH

2D1vh	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGC CTGTCCATCACATGCACTGTCTCTGGGTTCTCATTAAACCACCTATGCTATA AGCTGGGTTTCGCCAGTCACCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTTGGAGTCATA TGGACTGGTGGAGGCACAAAATATAATTAGCTCTCAAAATCCAGACTGAGC ATCAGCAAAGACAACCTCCAAGAGTCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTG CAAAGTATGACACAGCCAGGTACTACTGTGCCAGAAAGGACTATAATTAC GGGGGTGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:120)
	QVQLKESGPGLVAPSQSLISITCTVSGFSLTTYAISWVRQSPGKGLEWLGVI WTGGGTYNSALKSRLSISKDNSKQVFLKMNSLQTDRTARYYCARKDYN GGAMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO:121)

6B8VH	CAGGTTTCAGCTGCAACAGTCTGACGCTGAGTTGGTGAAACCTGGCACTTCA GTGAAGACATCCTGCAAAATTTCTGGCAACACCTTCACTGACCAAATATT CACTGGATGAAGCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAATGGATTGGATATATT TATCCTAGAGATGATAGTCCTAAGTACAATGAGAACTTCAAGGGCAAGGCC ACATTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAACAGT CTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTTCTGTGCAATCCCAGACAGGTCA GGCTACGCCTGGTTTATTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCT TCA (SEQ ID NO:122)
	QVQLQQSDAELVKPGTSVKTSCKISGNTFTDQTIHWMKQRPEQGLEWIGYI YPRDDSPKYNENFKGKATLTADKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYFCAIPDRS GYAWFIYWQGTLVTVSS (SEQ ID NO:123)
9D12VH	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGTCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGC CTGTCCATCACATGCACTGTCTCTGGGTTCTCATTAAACAACCTTGTCTATA AGTTGGGTTTCGTCAGCCACCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTTGGAGCAATA TGGACTGGTGGAGGCACAAATTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGAGC ATCAGCAAAGACAACCTCAAGAGTCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTG CAAACGTATGACACAGCCAGGTATTATTGTGTCAGAAAGGACTATAGTTAC GGGGGTGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:124)
	QVQLKESGPVLVAPSQSLSTCTVSGFSLNNFAISWVRQPPGKLEWLGA WTGGGTNYNSALKSRLSISKDNSKSQVFLKMNSLQTDITARYYCVRKDYSY GGAMDYWGQTSVTVSS (SEQ ID NO:125)
15C11vh	GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGTGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGTAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTACTACTATATG AACTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGTTATT ATTCCTTACAACGGTGGTACTAGCTACAACCAGAAAGTTCAAGGGCAAGGCC ACATTGACTGTTGACAAGTCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAACAGC CTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCACGAGATGGTCACCGC TGGTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:126)
	EVQLQQSGPVLVKPGASVKMSCKASGYTFTDYMNWVKQSHGKSLEWIGVI IPYNGGTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARDGHR WYFDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:127)
15F1vh	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTCCIMHWVKQKPGQGLEWIGYI NPYNDGTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARRWDE AYWGQGTLLVTVSA (SEQ ID NO:128)

18D3vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTCAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTCGCTATCTTATT CACTGGGTGAAACAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATT AATCCTTACAATGATGGTACTAAATACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACCTCTAACTGGGACCTC GACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:129)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTRYLIHWVKQKPGQGLEWIGYI NPYNDGTYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTSNWDL DYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID NO:130)
18C4vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAAGTGGTAAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTAGTTCTGTTATA CACTGGGTGAAGCAGAAGGCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATC AATCCCTATAATGATGGTACTAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAGATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGACGGTTGGACGAG GCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:131)
	EVQLQQSGPEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSSVIHWVKQKAGQGLEWIGYI NPYNDGTYNEKFKGKATLTSDRSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTRRLDE AYWGQGTLLVTVSA (SEQ ID NO:132)
18E5vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTGCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTCGCTATCTTATT CACTGGGTGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATT AATCCTTACAATGATGGTACTAAATATAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACCTCTAATTGGGACCTC GACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:133)
	EVQLQQSGPELVKPGA AVKMSCKASGYTFTRYLIHWVKQKPGQGLEWIGYI NPYNDGTYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTSNWDL DYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID NO:134)
20E8vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAACTGGTAAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTAGTTCTGTTATG CACTGGGTGAAGCAGAAGGCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATC AATCCCTATAATGATGGTACTCAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAAATTTTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGACGGTTGGACGAG GCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:135)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSSVMHWVKQKAGQGLEWIGYI NPYNDGTQYNEKFKGKATLTSDKFSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTRRLDE AYWGQGTLLVTVSA (SEQ ID NO:136)

22E2vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTAGCTCTATTATT CACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATT AATCCTTACGATGATGTTACTAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGACGGTGGGACGAG TCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:137)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYFTTSSIIHWVKQRPQGQLEWIGYI NPYDDVTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARRWDE SYWGQGTLLTVSA (SEQ ID NO:138)
24A5vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACTTTCACTACCTCTATTATG CACTGGGTGAAACAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATT AATCCTTACGATGATGTTACTAAGTACAATGAAAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACATTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGTAAGACGGTGGGACGAG GCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:139)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYFTTSSIMHWVKQKPGQGLEWIGYI NPYDDVTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCVRRWDE AYWGQGTLLTVSA (SEQ ID NO:140)
26F7VH	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATATCCTGTAAGGCTTCTGGATACACGTTTACTGACTACTACATG AACTGGGTGAGGCAGAGCCATGGAGAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATTTT AATCATAACAATGATGTTATTACTTACAACCCGAAGTTCAAGGGCAAGGTC ACATTGACTGTAGAGAAGTCTTCCACCACAGCCTACATGGAGCTCCGCAGC CTGTCATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGGGGGCTACGAGGC TACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:141)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTDYIMNWRQSHGESLEWIGDF NHNNDVITYNPKFKGKVTLTVEKSSSTAYMELRSLSEDSAVYYCARGLRG YYAMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO:142)
27G8vh	CAGGTTTCAGCTGCAACAGTCTGACGCTGAGTTGGTGAACCTGGAGCTTCA GTGAAGATATCCTGCAAGGTTTCTGGCTACACCTTCACTGACCATACTATT CACTGGATGAAGCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAATGGATTGGATATATT TATCCTAGAGATGGTTATCCTAAGTTCAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCC ACATTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAACAGC CTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTTCTGTGCAAGACGGCCCCCTTAC TATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCGCCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:143)

	QVQLQQSDAELVKPGASVKISCKVSGYTFTDHTIHWKQRPEQGLEWIGYI YPRDGYPKFNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYFCARRPPY YAMDYWGQGTSTVAVSS (SEQ ID NO:144)
31H9vh	GAGGTCCAAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTATCTTATG CACTGGGTGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGTTATATT AATCCTTACAATGATGGTACTAATTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTTCCCTTAACTGGGACTAT GCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:145)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTRYLMHWVKQKPGQGLEWIGYI NPYNDGTNYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCSLNWDY AYWGQGTSLVTVSA (SEQ ID NO:146)
34G3VH	GAGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGCGCTTCA GTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGTTACTCATTCACTGACTACAACATG AACTGGGTGAAGCAGAGCAAAGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGTAATT ATTCTAACTATGGTTTTACTAGCTACAATCAGAACTTCAAGGGCAAGGCC ACTTTGACTGTAGACCAGTCTTCCAGCACAGCCCACATGCAGCTCAACAGT GTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGTAAGAGATGGGGGAATA CTCCTCTGGTATCTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACCGTCTCC TCA (SEQ ID NO:147)
	EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSTFDYMNWVKQSKGKSLEWIGVI IPNYGFTSYNQNFKGKATLTVDQSSSTAQMQLNSVTSEDSAVYYCVRDGGI LLWYLDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:148)
34D9VH7	GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATACCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTACTACAACATG GACTGGGTGAAGAAGAGCCATGGAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATATC AATCCTCACAATGGTGGTACTATCTACAACCAGAAAGTTCAAGGGCAAGGCC ACATTGACTGTAGACAAGTCTCCAGCACAGCCCACATGGAGCTCCGCAGC CTGACATCTGAGGACACTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAAATTACTACGGT AGTAGTTACGGCTGGTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACC GTCTCGTCA (SEQ ID NO:149)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYTFDYNMDWVKKSHGKSLEWIGDI NPHNGGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAHEMELRSLTSEDVAVYYCARNYYG SSYGWYFDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:150)
43F5vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATTTCTGCAAGGCTTCTGGTTACTCATTCACTGGCTACTACATG AACTGGGTGAAGCAAAGTCTGAAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATT ATTCTTACCCTGGTGGTACTTCTTACAACCAGAAAGTTCAAGGCCAAGGCC ACATTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAAGAGC CTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAGAGAGCGGTGGG TTCTACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACCGTCTCC TCA (SEQ ID NO:151)

	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCRASGYSFTGYIMNWVKQSPEKSLEWIGEI IPTTGGTSYNQKFKAKATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARESGG FYWYFDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:152)
73H10VH	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGGTATGTTATG CACTGGGTGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATT AATCCTTACAATGATGTTACTAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAGATCCTCCAGCACAGCCTACATGAACTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTATTGTGCAAGAACTGGGACGTT CCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGATCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:153)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTRYVMHWVKQKPGQGLEWIGYI NPYNDVTKYNEKFKGKATLTSDRSSSTAYMKLSSLTSEDSAVYYCARNWDV PYWGQGLITVSA (SEQ ID NO:154)
74H3VH	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGGTATCTTATG CACTGGGTGAAGCAGAAGCCTGGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATT AATCCTTACAATGATGGTACTAAGTACAATGAGAGGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAACTGGGACGTA CCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:155)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTRYLMHWVKQKPGQGLEWIGYI NPYNDGTKYNERFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARNWDV PYWGQGLTVTVSA (SEQ ID NO:156)

Las secuencias de entramado humanas se seleccionaron para cada uno de los anticuerpos de ratón de partida basándose en la homología de entramado, la estructura de CDR, residuos canónicos conservados, los residuos de empaquetamiento de la zona de contacto conservados y otros parámetros.

5 Las CDR de cadena ligera y cadena pesada de ratón de los diversos anticuerpos de ratón se muestran en la tabla 3 y en la tabla 4, respectivamente. La tabla 4 también muestra tres CDR de cadenas pesadas derivadas del anticuerpo de ratón 6B8 a través del procedimiento de humanización.

10 Tabla 3: Secuencias de CDR de cadena ligera

	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
18C4	RASQSISEYLH (SEQ ID NO:1)	YASQSI (SEQ ID NO:2)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO:3)
18E5	RASQSIDYLY (SEQ ID NO:4)	FASQSI (SEQ ID NO:5)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO:3)
18D3	RASQSIDYLY (SEQ ID NO:4)	FASQSI (SEQ ID NO:5)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO:3)
20E8	RASQSISEYLH (SEQ ID NO:1)	YASQSI (SEQ ID NO:2)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO:3)
22E2	RASQISVYLH (SEQ ID NO:6)	YASQSI (SEQ ID NO:2)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO:3)
24A5	RASQSIDYLH (SEQ ID NO:7)	YASQSI (SEQ ID NO:2)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO:3)

15C11	RSSQSLVHSNGNTYLH (SEQ ID NO:8)	KVSNRFS (SEQ ID NO:9)	SQSTHVPYT (SEQ ID NO:10)
43F5	RSSQSLVHSNGNTYLH (SEQ ID NO:8)	KVSNRFS (SEQ ID NO:9)	SQSTHVPYT (SEQ ID NO:10)
27G8	RASKSVSTSGYSYIH (SEQ ID NO:11)	LASNLD (SEQ ID NO:12)	QHSRELPYT (SEQ ID NO:13)
31H9	RASQSIDYLH (SEQ ID NO:7)	YASQSI (SEQ ID NO:2)	QNGHSFPYT (SEQ ID NO:14)
2D1	RTSESVYSYGQNFH (SEQ ID NO:15)	RASNLES (SEQ ID NO:16)	QQTNEDPYT (SEQ ID NO:17)
9D12	RASETINFYGTSMFH (SEQ ID NO:18)	RASNLES (SEQ ID NO:16)	QQTNEDPYT (SEQ ID NO:17)
6B8	KASRDVAIAVA (SEQ ID NO:19)	WASTRHT (SEQ ID NO:20)	HQYSSYPFT (SEQ ID NO:21)
73H10	RASENIDSYLA (SEQ ID NO:22)	AARNLAD (SEQ ID NO:23)	QHYYSTPFT (SEQ ID NO:24)
74H3	RASENIDSYLA (SEQ ID NO:22)	AATNLAD (SEQ ID NO:25)	LHYYSTPFT (SEQ ID NO:26)
35H8	RSSQSLVHSNGNTYLH (SEQ ID NO:8)	KVSNRFS (SEQ ID NO:9)	SQSTHVPYT (SEQ ID NO:10)
26F7	RASKSVRFSDYFYM (SEQ ID NO:27)	LASNLES (SEQ ID NO:28)	QNSRELPYT (SEQ ID NO:29)
34G3	RSSQSLVHSNGNTYLH (SEQ ID NO:8)	KVSNRFS (SEQ ID NO:9)	SQSTHVPYT (SEQ ID NO:10)
34D9	KASQDVGNVAV (SEQ ID NO:30)	WASTRHI (SEQ ID NO:31)	QQYSSYLT (SEQ ID NO:32)

Tabla 4: Secuencias de CDR de cadena pesada

	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3
18C4	GYTFTSSVIH (SEQ ID NO:33)	YINPYNDGKYNEKFKG (SEQ ID NO:34)	RLDEAY (SEQ ID NO:35)
18E5	GYTFTRYLIH (SEQ ID NO:36)	YINPYNDGKYNEKFKG (SEQ ID NO:34)	NWDLDY (SEQ ID NO:37)
18D3	GYTFTRYLIH (SEQ ID NO:36)	YINPYNDGKYNEKFKG (SEQ ID NO:34)	NWDLDY (SEQ ID NO:37)
20E8	GYTFTSSVMH (SEQ ID NO:38)	YINPYNDGTQYNEKFKG (SEQ ID NO:39)	RLDEAY (SEQ ID NO:35)
22E2	GYTFTSSIIH (SEQ ID NO:40)	YINPYDDVTKYNEKFKG (SEQ ID NO:41)	RWDESY (SEQ ID NO:42)
24A5	GYTFTTSIMH (SEQ ID NO:43)	YINPYDDVTKYNEKFKG (SEQ ID NO:41)	RWDEAY (SEQ ID NO:44)
15C11	GYFTDYMMN (SEQ ID NO:45)	VIIPYNGGTSYNQKFKG (SEQ ID NO:46)	DGHRWYFDV (SEQ ID NO:47)
43F5	GYSFTGYMMN (SEQ ID NO:48)	EIIPYNGGTSYNQKFKG (SEQ ID NO:49)	ESGGFYWYFDV (SEQ ID NO:50)
27G8	GYFTDHTIH (SEQ ID NO:51)	YIIPRDGYPKFNEKFKG (SEQ ID NO:52)	RPPYYAMDY (SEQ ID NO:53)
31H9	GYTFTRYLMH (SEQ ID NO:54)	YINPYNDGTNYNEKFKG (SEQ ID NO:55)	NWDYAY (SEQ ID NO:56)
2D1	GFSLTYYAIS (SEQ ID NO:57)	VIWTGGGTYNSALKS (SEQ ID NO:58)	KDYNYYGGAMDY (SEQ ID NO:59)

9D12	GFSLNNFAIS (SEQ ID NO:60)	AIWTGGGTNYNSALKS (SEQ ID NO:61)	KDYSYGGAMDY (SEQ ID NO:62)
6B8	GNTFTDQTIH (SEQ ID NO:63)	YIYPRDDSPKYNENFKG (SEQ ID NO:64)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO:65)
Hu_6B8-2	GYTFTDQTIH (SEQ ID NO:66)	YIYPRDDSPKYNENFKG (SEQ ID NO:64)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO:65)
Hu_6B8-5	GFTFTDQTIH (SEQ ID NO:67)	YIYPRDDSPKYNENFKG (SEQ ID NO:64)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO:65)
Hu_6B8-36/65	GGTFTDQTIH (SEQ ID NO:68)	YIYPRDDSPKYNENFKG (SEQ ID NO:64)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO:65)
73H10	GYTFTRYVMH (SEQ ID NO:69)	YINPYNDVTKYNEKFKG (SEQ ID NO:70)	NWDVPY (SEQ ID NO:71)
74H3	GYTFTRYLMH (SEQ ID NO:54)	YINPYNDGTYNERFKG (SEQ ID NO:72)	NWDVPY (SEQ ID NO:71)
35H8	GYTFTDYMN (SEQ ID NO:45)	VIIIPYNGGISYNQKFKG (SEQ ID NO:73)	NDYDWFYFDV (SEQ ID NO:74)
26F7	GYTFTDYMN (SEQ ID NO:45)	DFNHNNVDITYNPKFKG (SEQ ID NO:75)	GLRGYYAMDY (SEQ ID NO:76)
34G3	GYSFTDYNMN (SEQ ID NO:77)	VIIIPNYGFTSYNQNFKG (SEQ ID NO:78)	DGGILLWYLDV (SEQ ID NO:79)
34D9	GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:80)	DINPHNGGTIYNQKFKG (SEQ ID NO:81)	NYYGSSYGWYFDV (SEQ ID NO:82)

Las CDR enumeradas anteriormente en las tablas 3 y 4 se definen usando el sistema de numeración de Chothia (Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273,927-948).

- 5 Los Fab que mostraron una unión mejor o igual en comparación con el Fab parental quimérico se seleccionaron para su conversión en IgG. 6B8 se convirtió en un formato IgG1KO. IgG1KO (inactivación de funciones efectoras) tiene dos mutaciones en la región Fc, Leu234Ala y Leu235Ala, que reducen la función efectora tal como Fc γ R y la unión al complemento. El formato de IgG se describe en la bibliografía (véase por ejemplo, Hezareh *et al.* (2001) Journal of Virology 75: 12161-12168). El ejemplo 1 describe el procedimiento de humanización con más detalle. Los resultados de tal humanización dieron como resultado secuencias de anticuerpo humanizado. En las tablas 5 y 6 se proporcionan y muestran un número representativo de regiones variables de cadena ligera y cadena pesada humanizadas derivadas del anticuerpo de ratón 6B8. En la figura 1 se muestra una alineación entre las regiones variables de cadena ligera y cadena pesada humanizadas derivadas del anticuerpo de ratón 6B8 y las regiones variables de cadena ligera y cadena pesada del anticuerpo de ratón 6B8.

- 15 La combinación seleccionada de regiones variables de cadena ligera y cadena pesada humanizadas derivadas del anticuerpo de ratón 6B8 dio como resultado los anticuerpos A, B, C y D:

- 20 Anticuerpo A: 6B8-IgG1KO-2 con IgK-66 (región variable de cadena pesada 6B8CVH-02 y región variable de cadena ligera 6B8CVK-66);

Anticuerpo B: 6B8-IgG1KO-5 con IgK-66 (región variable de cadena pesada 6B8CVH-05 y región variable de cadena ligera 6B8CVK-66);

- 25 Anticuerpo C: 688-IgG1KO-2 con IgK-65 (región variable de cadena pesada 6B8CVH-02 y región variable de cadena ligera 6B8CVK-65);

Anticuerpo D: 6B8-IgG1KO-5 con IgK-65 (región variable de cadena pesada 6B8CVH-05 y región variable de cadena ligera 6B8CVK-65).

- 30 Los anticuerpos A, B, C y D tienen las secuencias de cadena pesada y ligera mostradas en la tabla 7.

Tabla 5: Secuencias de VK de 6B8 humanizado

6B8CVK-65	Gacatccagatgacccagagcccaagcagcctgagcgccagcgtggg cgaccgcgtgaccatcacctgcaaggccagccgcgacgtggccatcg ccgtggcctggtaccagcagaagccaggcaaggtgccaaagctgctg ctgttctgggccagcaccgcgccacaccggcgtgccagaccgcttcag cggcagcggcagcggcaccgacttcaccctgaccatcagcagcctgc agccagaggacctggccgactactactgccaccagtacagcagctac ccattcaccttcggccagggcaccaagctggagatcaag (SEQ ID NO:157)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLL LFWASTRHTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDLADYYCHQYSSY PFTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:158)
6B8CVK-66	Gacatccagatgacccagagcccaagcagcctgagcgccagcgtggg cgaccgcgtgaccatcacctgcaaggccagccgcgacgtggccatcg ccgtggcctggtaccagcagaagccaggcaaggtgccaaagctgctg atctactgggccagcaccgcgccacaccggcgtgccaagccgcttcag cggcagcggcagcggcaccgacttcaccctgaccatcagcagcctgc agccagaggacgtggccgactacttctgccaccagtacagcagctac ccattcaccttcggcagcggcaccaagctggagatcaag (SEQ ID NO:159)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLL IYWASTRHTGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSY PFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:160)
6B8CVK-67	Gacatccagatgacccagagcccaagcagcctgagcgccagcgtggg cgaccgcgtgaccatcacctgcaaggccagccgcgacgtggccatcg ccgtggcctggtaccagcagaagccaggcaaggtgccaaagctgctg ctgtactgggccagcaccgcgccacaccggcgtgccaagccgcttcag cggcagcggcagcggcaccgacttcaccctgaccatcagcagcctgc agccagaggacgtggccacctactactgccaccagtacagcagctac ccattcaccttcggcagcggcaccaagctggagatcaag (SEQ ID NO:161)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLL LYWASTRHTGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVATYYCHQYSSY PFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:162)
6B8CVK-78	Gacatccagatgacccagagcccaagcagcctgagcgccagcgtggg cgaccgcgtgaccatcacctgcaaggccagccgcgacgtggccatcg ccgtggcctggtaccagcagaagccaggcaaggtgccaaagctgctg ctgttctgggccagcaccgcgccacaccggcgtgccagaccgcttcag cggcagcggcagcggcaccgacttcaccctgaccatcagcagcctgc agccagaggacctggccgactactactgccaccagtacagcagctac ccattcaccttcggcagcggcaccaagctggagatcaag (SEQ ID NO:163)

	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLL LFWASTRHTGVPDFRFSGSGSRTDFTLTISLQPEDLADYYCHQYSSY PFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:164)
--	--

Tabla 6: Secuencias de VH de 6B8 humanizado

6B8CVH-02	Caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaggtgaagaagccaggcag cagcgtgaaggtgagctgcaaggccagcggctacaccttcaccgacc agaccatccactggatgcgccaggccccaggccagggcctggagtgg atcggtacatctaccacgcgacgacagcccaaagtacaacgagaa cttcaagggcaaggtcaccatcaccgcccagacaagagcaccagcaccg cctacatggagctgagcagcctgcgagcagaggacaccgcccgtgtac tactgcgccatcccagaccgcagcggctacgcctggttcacttactg gggccagggcaccctggtgaccgtgagcagc (SEQ ID NO:165)
	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDQTIHWMRQAPGQGLEW IGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVY YCAIPDRSGYAWFIYWGGTGLVTVSS (SEQ ID NO:166)
6B8CVH-05	Caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaggtgaagaagccaggcag cagcgtgaaggtgagctgcaaggccagcggcttcaccttcaccgacc agaccatccactgggtgcgccaggccccaggccagggcctggagtgg atgggctacatctaccacgcgacgacagcccaaagtacaacgagaa cttcaagggcaaggtcaccctgaccgcccagacaagagcaccagcaccg cctacatggagctgagcagcctgcgagcagaggacaccgcccgtgtac tactgcgccatcccagaccgcagcggctacgcctggttcacttactg gggccagggcaccctggtgaccgtgagcagc (SEQ ID NO:167)
	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGTFDQTIHWVRQAPGQGLEW MGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVY YCAIPDRSGYAWFIYWGGTGLVTVSS (SEQ ID NO:168)
6B8CVH-36	Caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaggtgaagaagccaggcag cagcgtgaagaccagctgcaaggccagcggcgccaccttcaccgacc agaccatccactgggtgcgccagcggccaggccagggcctggagtgg atgggctacatctaccacgcgacgacagcccaaagtacaacgagaa cttcaagggccgcgtcaccatcaccgcccagacaagagcaccagcaccg cctacatggagctgagcagcctgcgagcagaggacaccgcccgtgtac tactgcgccatcccagaccgcagcggctacgcctggttcacttactg gggccagggcaccctggtgaccgtgagcagc (SEQ ID NO:169)
	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKTSCKASGGTFDQTIHWVRQRPQGLEW MGYIYPRDDSPKYNENFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVY YCAIPDRSGYAWFIYWGGTGLVTVSS (SEQ ID NO:170)

6B8CVH-65	Caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaggtgaagaagccaggcag cagcgtgaaggtgagctgcaaggccagcggcgccaccttcaccgacc agaccatccactgggtgcgccaggccccaggccaggcctggagtgg atgggctacatctacccacgcgacgacagcccaaagtacaacgagaa tttcaagggccgcgtcaccctgaccgcccagacaagagcaccagcaccg cctacatggagctgagcagcctgcgagcgaggacaccgcccgtgtac ttctgcgcccgcagaccgcagcggctacgcctggttcatctactg gggccaggccaccctggtgaccgtgagcagc (SEQ ID NO:171)
	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFTDQTIHWVRQAPGQGLEW MGYIYPRDDSPKYNENFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVY FCARPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:172)

Tabla 7: Secuencias de aminoácidos y de ADN de cadena pesada y ligera para los anticuerpos A, B, C y D

Anticuerpo A	Cadena ligera de IgK #66	<u>Gacatccagatgaccagagcccaagcagcctgagcg</u> <u>ccagcgtgggcgaccgcgtgaccatcacctgcaaggc</u> <u>cagccgcgacgtggccatcgccgtggcctggtaccag</u> <u>cagaagccaggcaaggtgccaaagctgctgactact</u> <u>gggccagcaccgcgcacaccggcgtgccaaagccgctt</u> <u>cagcggcagcggcagccgcaccgacttcaccctgacc</u> <u>atcagcagcctgcagccagaggacgtggccgactact</u> <u>tctgccaccagtacagcagctaccattcaccttcgg</u> <u>cagcggcaccaagctggagatcaagcgtactgtggct</u> <u>gcaccatctgtcttcattctccgccatctgatgagc</u> <u>agttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgct</u> <u>gaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtgg</u> <u>aaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccagg</u> <u>agagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcaccta</u> <u>cagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagac</u> <u>tacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcaccc</u> <u>atcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaa</u> <u>caggggagagtgt</u> (SEQ ID NO:173)
		<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQ</u> <u>QKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRDFTLT</u> <u>ISSLOPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKRTVA</u> APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:174)
	Cadena pesada de IgG1KO #2	<u>Caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaggtgaaga</u> <u>agccaggcagcagcgtgaaggtgagctgcaaggccag</u> <u>cggctacaccttcaccgaccagaccatccactggatg</u> <u>cggcagggccccaggccaggccctggagtggatcggt</u> <u>acatctacccacgcgacgacagcccaaagtacaacga</u> <u>gaacttcaagggcaaggtcaccatcaccgcccagacaag</u>

		<u>agcaccagcaccgcctacatggagctgagcagcctgc</u> <u>gcagcgaggacacccgcctgtactactgcgccatccc</u> <u>agaccgcagcggctacgcctgggttcactctactggggc</u> <u>cagggcaccctgggtgaccgtgagcagcgcctccacca</u> agggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaa gagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctg gtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgctg ggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacctt cccggctgtcctacagtctcaggactctactccctc agcagcgtgggtgaccgtgccctccagcagcttgggca cccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccag caacaccaaggtcgacaagagagttgagcccaaactct tgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcac cagaagctgctgggggaccgtcagctcttctcttccc cccaaaccgaaggacaccctcatgatctcccggacc cctgaggtcacatgcgtcgtgggtggacgtgagccacg aagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg cgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggag gagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcc tcaccgtcctgcaccaggactgggtgaatggcaagga gtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcc cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagc cccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg ggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgc ctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtgg agtgggagagcaatgggcagccggagaaactacaa gaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttc ttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggt ggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgca tgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctc tcctgtctccgggt (SEQ ID NO:175)
		<u>QVOLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDQTIHWM</u> <u>ROAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK</u> <u>STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWG</u> <u>QGLTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL</u>
		VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG (SEQ ID NO:176)

Anticuerpo B	Cadena ligera de IgK #66	(SEQ ID NO:173)
		(SEQ ID NO:174)
	Cadena pesada de IgG1KO #5	<u>caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaggtgaaga</u> <u>agccaggcagcagcgtgaaggtgagctgcaaggccag</u> <u>cggcttcaccttcaccgaccagaccatccactgggtg</u> <u>cgccaggccccaggccaggcctggagtggatgggct</u> <u>acatctacccacgcgacgacagcccaaagtacaacga</u> <u>gaacttcaagggcaaggtcaccctgaccgcccgaag</u> <u>agcaccagcaccgcctacatggagctgagcagcctgc</u> <u>gcagcgaggacaccgcccgtgtactactgcgccatccc</u> <u>agaccgcagcggctacgcctggttcactactggggc</u> <u>cagggcaccctggtgaccgtgagcagcgcctccacca</u> agggcccatcggtcttccccctggcaccctcctcaa gagcacctctgggggcacagcggccctgggctgctg gtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgt ggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacctt cccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctc agcagcgtggtgaccgtgcctccagcagcttgggca cccagacctacatctcaacatgaatcacaacccca caacaccaaggtcgacaagagagttgagcccaaactc tgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcac cagaagctgctgggggaccgtcagtcctcctctccc ccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccgacc cctgaggtcacatgcgtcgtggtggacgtgagccacg aagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg cgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggag gagcagtacaacagcagctaccgtgtggtcagcgtcc tcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaagga gtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagcc cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagc ccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcccg ggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgc ctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtgg agtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaa gaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttc ttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggt ggcagcaggggaacgtcttctcatgctcgtgatgca tgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctc tccctgtctccgggt (SEQ ID NO:177)

		<u>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGFTFTDQTIHWV</u> <u>ROAPGQGLEWMGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTLTADK</u> <u>STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWG</u> <u>QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL</u> VVDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG (SEQ ID NO:178)
Anticuerpo C	Cadena ligera de IgK #65	<u>Gacatccagatgacccagagcccaagcagcctgagcg</u> <u>ccagcgtggcgaccgcgtgaccatcacctgcaaggc</u> <u>cagccgcgacgtggccatcgccgtggcctggtaccag</u> <u>cagaagccaggcaaggtgccaaagctgctgctgttct</u> <u>gggccagcaccgcccacaccggcgtgccagaccgctt</u> <u>cagcggcagcggcagcggcaccgacttcaccctgacc</u> <u>atcagcagcctgcagccagaggacctggccgactact</u> <u>actgccaccagtacagcagctacccattcaccttcgg</u> <u>ccagggcaccaagctggagatcaagcgtactgtggct</u> gcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagc agttgaaatctggaactgcctctgttggtgctgct gaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtgg aaggtggataaacgccctccaatcgggtaactcccagg agagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcaccta cagcctcagcagcacctgacgctgagcaaagcagac tacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcaccc atcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaa caggggagagtgt (SEQ ID NO:179)
		<u>DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASRDVAIAVAWYQ</u> <u>QKPGKVPKLLLFWASTRHTGVPDRFSGSGSGTDFTLT</u> <u>ISSLOPEDLADYYCHOYSSYPFTFGOGTKLEIKRTVA</u> APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:180)
	Cadena pesada de IgG1KO #2	(SEQ ID NO:175)
		(SEQ ID NO:176)
Anticuerpo D	Cadena ligera de IgK #65	(SEQ ID NO:179)

		(SEQ ID NO:180)
	Cadena pesada de IgG1KO #5	(SEQ ID NO:177)
		(SEQ ID NO:178)

Las regiones variables de cadena ligera y cadena pesada de los anticuerpos A, B, C y D están subrayadas en la tabla 7 anterior.

- 5 En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene al menos una de las propiedades a continuación. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene cualquier combinación de al menos dos, o al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 de las propiedades a continuación. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación presenta todas las propiedades a continuación.
- 10
- K_D para IL-23 humana ≤ 1 pM (sin cambio en la asociación de unión en suero humano al 50%)
 - Bloquea la unión de IL-23 a IL-23R/Fc humano *in vitro*
 - 15 Sin unión a IL-12 humana
 - Inhibe la producción de IL-17 inducida por IL-23 humana en esplenocitos de ratón con $CI_{50} \leq 20$ pM
 - Inhibe la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 humana en células DB humanas con $CI_{50} \leq 40$ pM
 - 20 Sin actividad predicha en CCDA/CDC
 - $K_D \leq 1$ pM para IL-23 de macaco cangrejero
 - 25 Sin reactividad cruzada con IL-23 de ratón o de rata
 - Inhibe la producción de IL-17 e IL-22 inducida por IL-23 humana en oreja de ratón (inhibición $\geq 80\%$ de ambas citocinas a 1 mg/kg)
 - 30 Estabilidad a 83°C (temperatura de fusión de 83°C tal como se determina mediante calorimetría diferencial de barrido)
 - Solubilidad ≥ 100 mg/ml (tal como se mide mediante espectroscopía UV y monitoriza por la turbidez)
 - 35 La administración subcutánea de 1,0 mg/kg en tres macacos cangrejeros muestra una exposición sostenida ≥ 10 nM durante aproximadamente 28 días con una biodisponibilidad de aproximadamente el 70%.

Por "sin actividad predicha en CCDA/CDC" se entiende en el presente documento que un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene una afinidad reducida por el receptor de Fc y, por tanto, se predice que no tiene actividad en CCDA/CDC.

40

- En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene al menos una de las propiedades a continuación. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene cualquier combinación de al menos dos, o al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 de las propiedades a continuación. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación presenta todas las propiedades a continuación.
- 45
- K_D para IL-23 humana ≤ 1 pM (sin cambio en la asociación de unión en suero humano al 50%)
 - 50 Bloquea la unión de IL-23 a IL-23R/Fc humano *in vitro*
 - Sin unión a IL-12 humana
 - Inhibe la producción de IL-17 inducida por IL-23 humana en esplenocitos de ratón con $CI_{50} \leq 20$ pM
 - 55 Inhibe la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 humana en células DB humanas con $CI_{50} \leq 40$ pM

- Sin actividad predicha en CCDA/CDC
- $K_p \leq 1$ pM para IL-23 de macaco cangrejero
- 5 • Sin reactividad cruzada con IL-23 de ratón o de rata
- Inhibe la producción de IL-17 e IL-22 inducida por IL-23 humana en oreja de ratón (inhibición $\geq 80\%$ de ambas citocinas a 1 mg/kg)
- 10 • Estabilidad a 83°C (temperatura de fusión de 83°C tal como se determina mediante calorimetría diferencial de barrido)
- Solubilidad ≥ 100 mg/ml (tal como se mide mediante espectroscopía UV y monitoriza por la turbidez).
- 15 En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene al menos una de las siguientes propiedades de unión (propiedades A). En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene cualquier combinación de al menos dos, o al menos 3, de las propiedades a continuación. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación presenta todas las propiedades a continuación.
- 20 • K_D para IL-23 humana ≤ 1 pM (sin cambio en la asociación de unión en suero humano al 50%)
- Sin unión a IL-12 humana
- 25 • $K_D \leq 1$ pM para IL-23 de macaco cangrejero
- Sin reactividad cruzada con IL-23 de ratón o de rata.
- 30 En particular, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene una K_D para IL-23 humana ≤ 1 pM (sin cambio en la asociación de unión en suero humano al 50%) y sin unión a IL-12 humana.
- 35 En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene al menos una de las siguientes propiedades funcionales (propiedades B). En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene cualquier combinación de al menos dos, o al menos 3, de las propiedades a continuación. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación presenta todas las propiedades a continuación.
- Bloquea la unión de IL-23 a IL-23R/Fc humano *in vitro*
- 40 • Inhibe la producción de IL-17 inducida por IL-23 humana en esplenocitos de ratón con $CI_{50} \leq 20$ pM
- Inhibe la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 humana en células DB humanas con $CI_{50} \leq 40$ pM
- 45 • Inhibe la producción de IL-17 e IL-22 inducida por IL-23 humana en oreja de ratón (inhibición $\geq 80\%$ de ambas citocinas a 1 mg/kg).
- 50 En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene al menos una de las siguientes propiedades (propiedades C). En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene cualquier combinación de al menos dos, o al menos 3, de las propiedades a continuación. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación presenta todas las propiedades a continuación.
- Sin actividad predicha en CCDA/CDC
- 55 • Estabilidad a 83°C (temperatura de fusión de 83°C tal como se determina mediante calorimetría diferencial de barrido)
- Solubilidad ≥ 100 mg/ml (tal como se mide mediante espectroscopía UV y monitoriza por la turbidez)
- 60 • La administración subcutánea de 1,0 mg/kg en tres macacos cangrejeros muestra una exposición sostenida ≥ 10 nM durante aproximadamente 28 días con una biodisponibilidad de aproximadamente el 70%.

En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene al menos una de las siguientes

propiedades (propiedades C). En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente invención tiene cualquier combinación de al menos dos de las propiedades a continuación. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación presenta todas las propiedades a continuación.

- 5 • Sin actividad predicha en CCDA/CDC
- Estabilidad a 83°C (temperatura de fusión de 83°C tal como se determina mediante calorimetría diferencial de barrido)
- 10 • Solubilidad ≥ 100 mg/ml (tal como se mide mediante espectroscopía UV y monitoriza por la turbidez).

En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene al menos una propiedad A, al menos una propiedad B y al menos una propiedad C. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene cualquier combinación de al menos dos, o al menos 3, de las propiedades A, B y C.

En algunos aspectos, el anticuerpo humanizado muestra actividad de bloqueo, mediante lo cual disminuye la unión de IL-23 al receptor de IL-23 en al menos el 45%, en al menos el 50%, en al menos el 55%, en al menos el 60%, en al menos el 65%, en al menos el 70%, en al menos el 75%, en al menos el 80%, en al menos el 85%, en al menos el 90% o en al menos el 95%. La capacidad de un anticuerpo para bloquear la unión de IL-23 al receptor de IL-23 puede medirse usando ensayos de unión competitiva conocidos en la técnica. Alternativamente, la actividad de bloqueo de un anticuerpo puede medirse evaluando los efectos biológicos de IL-23, tales como la producción de IL-17 e IL-22 para determinar si se inhibe la señalización mediada por el receptor de IL-23.

En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado que tiene propiedades biofísicas favorables. En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación está presente en al menos el 90% en forma de monómero, o en al menos el 92% en forma de monómero, o en al menos el 95% en forma de monómero en un tampón. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación permanece en al menos el 90% en forma de monómero, o en al menos el 92% en forma de monómero, o en al menos el 95% en forma de monómero en un tampón durante un mes o durante cuatro meses.

En un aspecto, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación es el anticuerpo A, anticuerpo B, anticuerpo C o anticuerpo D. El anticuerpo humanizado de la composición de la presente invención comprende o consiste en la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO:174 y la secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO:176 (anticuerpo A). En otro aspecto de referencia, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación comprende o consiste en la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO:174 y la secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO:178 (anticuerpo B). En otro aspecto de referencia, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación comprende o consiste en la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO:180 y la secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO:176 (anticuerpo C). En otro aspecto de referencia, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación comprende o consiste en la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO:180 y la secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO:178 (anticuerpo D).

En algunos aspectos de referencia, los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados, incluyendo fragmentos de unión a antígeno de los mismos, tales como regiones variables de cadena pesada y ligera, comprenden una secuencia de aminoácidos de los residuos derivados del anticuerpo A (secuencia de cadena ligera = SEQ ID NO:174; secuencia de cadena pesada = SEQ ID NO:176), anticuerpo B (secuencia de cadena ligera = SEQ ID NO:174; secuencia de cadena pesada = SEQ ID NO:178), anticuerpo C (secuencia de cadena ligera = SEQ ID NO:180; secuencia de cadena pesada = SEQ ID NO:176) o anticuerpo D (secuencia de cadena ligera = SEQ ID NO:180; secuencia de cadena pesada = SEQ ID NO:178).

En una realización adicional, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 que se une a IL-23p19 humana en un epítipo que consiste en los residuos de aminoácido 108 a 126 y los residuos de aminoácido 137 a 151 de SEQ ID NO:181.

En un aspecto de referencia adicional, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une de manera competitiva a IL-23p19 humana con un anticuerpo de la presente invención, por ejemplo, el anticuerpo A, anticuerpo B, anticuerpo C o anticuerpo D descrito en el presente documento. La capacidad de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno para unirse de manera competitiva a IL-23p19 puede medirse usando ensayos de unión competitiva conocidos en la técnica.

Los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados incluyen opcionalmente sustituciones de aminoácidos específicas en las regiones de entramado de consenso o de la línea germinal. La sustitución específica de residuos de aminoácido en estas posiciones de entramado puede mejorar diversos aspectos del rendimiento de anticuerpo, incluyendo la afinidad de unión y/o la estabilidad, con respecto a los demostrados en anticuerpos humanizados formados mediante "intercambio directo" de las CDR o los HVL en las regiones de entramado de la línea germinal humana.

En algunos aspectos de referencia, la presente divulgación describe otros anticuerpos monoclonales con una región

variable de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO:84, 86, 88, 90, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117 ó 119. En algunos aspectos de referencia, la presente divulgación describe otros anticuerpos monoclonales con una región variable de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO:121, 123, 125, 127, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154 ó 156 (véanse las tablas 1 y 2 anteriores). En las tablas 3 y 4 se muestran las secuencias de CDR de estos anticuerpos de ratón. La colocación de tales CDR en las FR de los dominios variables de cadena pesada y ligera de consenso humanos producirán anticuerpos humanizados útiles de la presente invención.

En particular, la presente divulgación proporciona anticuerpos monoclonales con las combinaciones de regiones variables de cadena ligera y variables de cadena pesada de SEQ ID NO:84/121, 86/123, 88/125, 90/127, 91/128, 93/130, 95/132, 97/134, 99/136, 101/138, 103/140, 105/142, 107/144, 109/146, 111/148, 113/150, 115/152, 117/154 ó 119/156. Tales regiones variables pueden combinarse con regiones constantes humanas.

En algunos aspectos de referencia, la presente divulgación describe otros anticuerpos humanizados con secuencias de región variable de cadena ligera que tienen la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO:158, 160, 162 ó 164. En algunos aspectos de referencia, la presente divulgación describe otros anticuerpos humanizados con secuencias de región variable de cadena pesada que tienen la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO:166, 168, 170 ó 172 (véanse las tablas 5 y 6 anteriores). En las tablas 3 y 4 se muestran las secuencias de CDR de estos anticuerpos. En particular, la presente divulgación proporciona anticuerpos monoclonales con las combinaciones de regiones variables de cadena ligera y variables de cadena pesada de SEQ ID NO:160/166, 160/168, 158/166 ó 158/168. Tales regiones variables pueden combinarse con regiones constantes humanas.

En un aspecto de referencia adicional, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:160 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica, al menos el 93% idéntica o al menos el 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO:160 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:166 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica, al menos el 93% idéntica o al menos el 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO:166. En un aspecto de referencia, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado.

En un aspecto de referencia adicional, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:160 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica, al menos el 93% idéntica o al menos el 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO:160 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:168 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica, al menos el 93% idéntica o al menos el 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO:168. En un aspecto de referencia, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado.

En un aspecto de referencia adicional, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:158 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica, al menos el 93% idéntica o al menos el 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO:158 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:166 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica, al menos el 93% idéntica o al menos el 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO:166. En un aspecto de referencia, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado.

En un aspecto de referencia adicional, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:158 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica, al menos el 93% idéntica o al menos el 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO:158 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO:168 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica, al menos el 93% idéntica o al menos el 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO:168. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado.

En algunos aspectos de referencia específicos, los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados divulgados en el presente

documento comprenden al menos un dominio variable de cadena pesada o ligera que comprende las CDR o los HVL de los anticuerpos monoclonales murinos o anticuerpos humanizados tal como se muestra en las tablas 1 a 6 anteriores y las FR de los dominios variables de cadena pesada y ligera de la línea germinal humana.

En las tablas 3 y 4 se muestran las CDR de estas secuencias. Por consiguiente, en un aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una secuencia de CDR1 de cadena ligera (L-CDR1) de SEQ ID NO:1, 4, 6, 7, 8, 11, 15, 18, 19, 22, 27 ó 30; una secuencia de CDR2 de cadena ligera (L-CDR2) de SEQ ID NO:2, 5, 9, 12, 16, 20, 23, 25, 28 ó 31; una secuencia de CDR3 de cadena ligera (L-CDR3) de SEQ ID NO:3, 10, 13, 14, 17, 21, 24, 26, 29 ó 32; una secuencia de CDR1 de cadena pesada (H-CDR1) de SEQ ID NO:33, 36, 38, 40, 43, 45, 48, 51, 54, 57, 60, 63, 66, 67, 68, 69, 77 u 80; una secuencia de CDR2 de cadena pesada (H-CDR2) de SEQ ID NO:34, 39, 41, 46, 49, 52, 55, 58, 61, 64, 70, 72, 73, 75, 78 u 81; y una secuencia de CDR3 de cadena pesada (H-CDR3) de SEQ ID NO:35, 37, 42, 44, 47, 50, 53, 56, 59, 62, 65, 71, 74, 76, 79 u 82. En un aspecto, el anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una L-CDR1 enumerada anteriormente, una L-CDR2 enumerada anteriormente y una L-CDR3 enumerada anteriormente, y una región variable de cadena pesada que comprende una H-CDR1 enumerada anteriormente, una H-CDR2 enumerada anteriormente y una H-CDR3 enumerada anteriormente.

En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende:

a) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:1, 2, 3, 33, 34 y 35, respectivamente; o

b) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:4, 5, 3, 36, 34 y 37, respectivamente; o

c) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:1, 2, 3, 38, 39 y 35, respectivamente; o

d) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:6, 2, 3, 40, 41 y 42, respectivamente; o

e) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:7, 2, 3, 43, 41 y 44, respectivamente; o

f) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:8, 9, 10, 45, 46 y 47, respectivamente; o

g) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:8, 9, 10, 48, 49 y 50, respectivamente; o

h) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:11, 12, 13, 51, 52 y 53, respectivamente; o

i) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:7, 2, 14, 54, 55 y 56, respectivamente; o

j) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:15, 16, 17, 57, 58 y 59, respectivamente; o

k) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:18, 16, 17, 60, 61 y 62, respectivamente; o

l) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:19, 20, 21, 63, 66, 67 ó 68, 64 y 65, respectivamente; o

m) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:22, 23, 24, 69, 70 y 71, respectivamente; o

n) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:22, 25, 26, 55, 72 y 71, respectivamente; o

o) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:8, 9, 10, 45, 73 y 74, respectivamente; o

p) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-

CDR3 de SEQ ID NO:27, 28, 29, 45, 75 y 76, respectivamente; o

q) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:8, 9, 10, 77, 78 y 79, respectivamente; o

r) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO:30, 31, 32, 80, 81 y 82, respectivamente.

En un aspecto, el anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una combinación de L-CDR1, L-CDR2 y L-CDR3 enumerada anteriormente, y una región variable de cadena pesada que comprende una combinación de H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 enumerada anteriormente.

En aspectos de referencia específicos, se contempla que los anticuerpos quiméricos con regiones CDR intercambiadas (es decir, por ejemplo, intercambio de una o dos CDR de uno de los anticuerpos de ratón o del anticuerpo humanizado derivado de los mismos por una CDR análoga de otro anticuerpo de ratón o anticuerpo humanizado derivado del mismo) entre estas inmunoglobulinas a modo de ejemplo pueden producir anticuerpos útiles.

En determinados aspectos de referencia, el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado es un fragmento de anticuerpo. Anteriormente, se han comentado generalmente diversos fragmentos de anticuerpo, y existen técnicas que se han desarrollado para la producción de fragmentos de anticuerpo. Los fragmentos pueden derivar mediante digestión proteolítica de anticuerpos intactos (véase, por ejemplo, Morimoto *et al.*, 1992, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 24:107-117; y Brennan *et al.*, 1985, *Science* 229:81). Alternativamente, los fragmentos pueden producirse directamente en células huésped recombinantes. Por ejemplo, los fragmentos Fab'-SH puede recuperarse directamente de *E. coli* y acoplarse químicamente para formar fragmentos F(ab')₂ (véase, por ejemplo, Carter *et al.*, 1992, *Bio/Technology* 10:163-167). Mediante otro enfoque, los fragmentos F(ab')₂ pueden aislarse directamente de un cultivo de células huésped recombinantes. Otras técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpo resultarán evidentes para el experto habitual. Por consiguiente, en un aspecto, la presente divulgación proporciona fragmentos de anticuerpo que comprenden las CDR descritas en el presente documento, en particular una de las combinaciones de L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 descritas en el presente documento. En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona fragmentos de anticuerpo que comprenden las regiones variables descritas en el presente documento, por ejemplo, una de las combinaciones de regiones variables de cadena ligera y regiones variables de cadena pesada descritas en el presente documento.

Determinados aspectos de referencia incluyen un fragmento F(ab')₂ de un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado que comprende una secuencia de cadena ligera de cualquiera de SEQ ID NO:174 ó 180 en combinación con una secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO:176 ó 178. Tales aspectos de referencia pueden incluir un anticuerpo intacto que comprende un F(ab')₂ de este tipo.

En algunos aspectos de referencia, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo incluye una región constante que media en la función efectora. La región constante puede proporcionar respuestas de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (FCDA) y/o citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) contra una célula diana que expresa IL-23. El/los dominio(s) efector(es) puede(n) ser, por ejemplo, una región Fc de una molécula de Ig.

El dominio efector de un anticuerpo puede ser de cualquier isotipo o especie de animal vertebrado adecuado. Los isotipos de diferentes especies animales difieren en las capacidades para mediar en las funciones efectoras. Por ejemplo, la capacidad de una inmunoglobulina humana para mediar en CDC y CCDA/FCDA es generalmente en el orden de IgM>IgG₁>IgG₃>IgG₂>IgG₄ e IgG₁>IgG₃>IgG₂/IgM/IgG₄, respectivamente. Las inmunoglobulinas murinas median en CDC y CCDA/FCDA generalmente en el orden de IgM >IgG₃>>IgG_{2b}>IgG_{2a}>>IgG₁ e IgG_{2b}>IgG_{2a}>IgG₁>>IgG₃ murinas, respectivamente. En otro ejemplo, la IgG_{2a} murina media en CCDA mientras que tanto IgG_{2a} como IgM murinas median en CDC.

Modificaciones de anticuerpo

Los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados y agentes pueden incluir modificaciones del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo. Por ejemplo, puede ser deseable modificar el anticuerpo con respecto a su función efectora, para potenciar la eficacia del anticuerpo en el tratamiento del cáncer. Una de tales modificaciones es la introducción de residuo(s) de cisteína en la región Fc, permitiendo de ese modo la formación de enlaces disulfuro intercatenarios en esta región. El anticuerpo homodimérico generado de ese modo puede tener capacidad de internalización mejorada y/o destrucción celular mediada por el complemento y/o citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA) aumentadas. Véase, por ejemplo, Caron *et al.*, 1992, *J. Exp Med.* 176:1191-1195; y Shopes, 1992, *J. Immunol.* 148:2918-2922. Los anticuerpos homodiméricos que tienen actividad antitumoral potenciada también pueden prepararse usando agentes de reticulación heterobifuncionales tal como se describe en Wolff *et al.*, 1993, *Cancer Research* 53: 2560-2565. Alternativamente, un anticuerpo puede modificarse por ingeniería para contener regiones Fc duales, lo que potencia la lisis del complemento y las capacidades de CCDA del anticuerpo.

Véase Stevenson *et al.*, 1989, *Anti-Cancer Drug Design* 3: 219-230.

Los anticuerpos con capacidad mejorada para respaldar la CCDA se han generado modificando el patrón de glicosilación de su región Fc. Esto es posible puesto que la glicosilación del anticuerpo en el residuo de asparagina, N297, en el dominio C_{H2} está implicada en la interacción entre los receptores de Fc γ e IgG, que es un requisito previo para la CCDA. Se han modificado por ingeniería líneas de células huésped para expresar anticuerpos con glicosilación alterada, tal como N-acetilglucosamina bisectriz aumentada o fucosa reducida. La reducción de fucosa proporciona una mayor potenciación para la actividad de CCDA que el aumento de la presencia de N-acetilglucosamina bisectriz. Además, la potenciación de CCDA mediante anticuerpos con bajo contenido en fucosa es independiente del polimorfismo V/F de Fc γ R111a.

La modificación de la secuencia de aminoácidos de la región Fc de anticuerpos es una alternativa a la ingeniería de glicosilación para potenciar la CCDA. El sitio de unión en IgG₁ humana para los receptores de Fc γ se ha determinado mediante un amplio análisis mutacional. Esto conduce a la generación de anticuerpos IgG₁ humanizados con mutaciones en Fc que aumentan la afinidad de unión por Fc γ R111a y potencian la CCDA *in vitro*. Además, se han obtenido variantes de Fc con muchas permutaciones diferentes de propiedades de unión, por ejemplo, unión mejorada a receptores de Fc γ R específicos con unión inalterada o disminuida a otros receptores de Fc γ R.

Otro aspecto incluye inmunoconjugados que comprenden el anticuerpo humanizado o fragmentos del mismo conjugados con un agente citotóxico tal como un agente quimioterápico, una toxina (por ejemplo, una toxina enzimáticamente activa de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, o fragmentos de la misma), o un isótopo radiactivo (es decir, un radioconjugado).

Anteriormente se han descrito agentes quimioterápicos útiles en la generación de tales inmunoconjugados. Las toxinas enzimáticamente activas y los fragmentos de las mismas que pueden usarse para formar inmunoconjugados útiles incluyen cadena A de difteria, fragmentos activos distintos de unión de la toxina diftérica, cadena A de exotoxina A (de *Pseudomonas aeruginosa*), cadena A de ricina, cadena A de abrina, cadena A de modicina, alfa-sarcina, proteínas de *Aleurites fordii*, proteínas diantina, proteínas de *Phytolacca americana* (PAPI, PAPII y PAP-S), inhibidor de *Momordica charantia*, curcina, crotina, inhibidor de *Saponaria officinalis*, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, enomicina, los tricotecenos, y similares. Hay disponibles una variedad de radionúclidos para la producción de anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados radioconjugados. Los ejemplos incluyen ²¹²Bi, ¹³¹I, ¹³¹En, ⁹⁰Y y ¹⁸⁶Re.

Los conjugados del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado y el agente citotóxico o quimioterápico pueden prepararse mediante métodos conocidos, usando una variedad de agentes de acoplamiento de proteínas bifuncionales tales como N-succinimidil-3-(2-piridilditiol)propionato (SPDP), iminotiolano (IT), derivados bifuncionales de imidoésteres (tales como HCl de adipimidato de dimetilo), ésteres activos (tales como suberato de disuccinimidilo), aldehídos (tales como glutaraldehído), compuestos de bis-azido (tales como bis(p-azidobenzoil)hexanodiamina), derivados de bis-diazonio (tales como bis-(p-diazoniobenzoil)-etilendiamina), diisocianatos (tales como tolueno-2,6-diisocianato) y compuestos de bis-flúor activo (tales como 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzoceno). Por ejemplo, puede prepararse una inmunotoxina de ricina tal como se describe en Vitetta *et al.*, 1987, *Science* 238:1098. El ácido 1-isotiocianatobencil-3-metildietilentríaminopentaacético (MX-DTPA) marcado con carbono-14 es un agente quelante a modo de ejemplo para la conjugación de un radionucleótido al anticuerpo. Los conjugados también pueden formarse con un ligador escindible.

Los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados divulgados en el presente documento también pueden formularse como inmunoliposomas. Los liposomas que contienen el anticuerpo se preparan mediante métodos conocidos en la técnica, tal como se describe en Epstein *et al.*, 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:3688; Hwang *et al.*, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4030; y las patentes estadounidenses n.ºs 4.485.045 y 4.544.545. Los liposomas que tienen un tiempo de circulación potenciado se divulgan, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 5.013.556.

Pueden generarse liposomas particularmente útiles mediante el método de evaporación en fase inversa con una composición lipídica que comprende fosfatidilcolina, colesterol y fosfatidiletanolamina derivatizada con PEG (PEG-PE). Los liposomas se extruyen a través de filtros de tamaño de poro definido para producir liposomas con el diámetro deseado. Los fragmentos Fab' de un anticuerpo divulgados en el presente documento pueden conjugarse con los liposomas tal como se describe en Martin *et al.*, 1982, *J. Biol. Chem.* 257:286-288 mediante una reacción de intercambio de disulfuro. Opcionalmente, está contenido un agente quimioterápico (tal como doxorubicina) dentro del liposoma. Véase, por ejemplo, Gabizon *et al.*, 1989, *J. National Cancer Inst.* 81(19):1484.

Los anticuerpos descritos y divulgados en el presente documento también pueden usarse en procedimientos de ADEPT (terapia de activación enzimática de profármacos dirigida por anticuerpos) conjugando el anticuerpo a una enzima activadora de profármaco que convierte un profármaco (por ejemplo, un agente quimioterápico de peptidilo) en un fármaco antineoplásico activo. Véase, por ejemplo, el documento WO 81/01145, el documento WO 88/07378 y la patente estadounidense n.º 4.975.278. El componente de enzima del inmunoconjugado útil para ADEPT es una enzima capaz de actuar sobre un profármaco de modo que lo convierte en su forma citotóxica, más activa. Las enzimas específicas que son útiles en ADEPT incluyen, pero no se limitan a, fosfatasa alcalina para convertir profármacos que

contienen fosfato en fármacos libres; arilsulfatasa para convertir profármacos que contienen sulfato en fármacos libres; citosina desaminasa para convertir 5-fluorocitosina no tóxica en el fármaco antineoplásico, 5-fluorouracilo; proteasas, tales como serratioproteasa, termolisina, subtilisina, carboxipeptidasas y catepsinas (tales como catepsinas B y L), para convertir profármacos que contienen péptidos en fármacos libres; D-alanilcarboxipeptidasas para convertir profármacos que contienen sustituyentes D-aminoácidos; enzimas de escisión de hidratos de carbono, tales como β -gatactosidasa y neuraminidasa, para convertir profármacos glicosilados en fármacos libres; β -lactamasa para convertir fármacos derivatizados con β -lactamas en fármacos libres; y penicilina amidasa, tales como penicilina V amidasa o penicilina G amidasa, para convertir fármacos derivatizados en sus nitrógenos de amina con grupos fenoxiacetilo o fenilacetilo, respectivamente, en fármacos libres. Alternativamente, los anticuerpos que tienen actividad enzimática ("abzimas") pueden usarse para convertir los profármacos en fármacos activos libres (véase, por ejemplo, Massey, 1987, Nature 328: 457-458). Los conjugados anticuerpo-abzima pueden prepararse mediante métodos conocidos para el suministro de la abzima a una población de células tumorales, por ejemplo, uniendo de manera covalente la enzima al anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado/reactivos de reticulación heterobifuncionales comentados anteriormente. Alternativamente, pueden construirse proteínas de fusión que comprenden al menos la región de unión a antígeno de un anticuerpo divulgado en el presente documento unida a al menos una porción funcionalmente activa de una enzima tal como se describió anteriormente usando técnicas de ADN recombinante (véase, por ejemplo, Neuberger *et al.*, 1984, Nature 312:604-608).

En determinados aspectos de referencia, puede ser deseable usar un fragmento de anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado, en lugar de un anticuerpo intacto, para aumentar la penetración tisular, por ejemplo. Puede ser deseable modificar el fragmento de anticuerpo con el fin de aumentar su semivida sérica. Esto puede lograrse, por ejemplo, mediante la incorporación de un epítipo de unión a receptor de rescate en el fragmento de anticuerpo. En un método, puede alterarse (por ejemplo, mutarse) la región apropiada del fragmento de anticuerpo, o puede incorporarse el epítipo en una etiqueta peptídica que luego se fusiona con el fragmento de anticuerpo en cualquier extremo o en la parte central, por ejemplo, mediante síntesis de ADN o de péptidos. Véase, por ejemplo, el documento WO 96/32478.

En otros aspectos de referencia, también se incluyen modificaciones covalentes del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado. Las modificaciones covalentes incluyen modificación de residuos cisteinilo, residuos histidilo, residuos lisinilo y amino-terminales, residuos arginilo, residuos tirosilo, grupos laterales carboxilo (aspartilo o glutamilo), residuos glutaminilo y asparaginilo, o serilo, o residuos treonilo. Otro tipo de modificación covalente implica acoplar química o enzimáticamente glicósidos con el anticuerpo. Tales modificaciones pueden realizarse mediante síntesis química o mediante escisión enzimática o química del anticuerpo, si es aplicable. Pueden introducirse en la molécula otros tipos de modificaciones covalentes del anticuerpo haciendo reaccionar residuos de aminoácido seleccionados como diana del anticuerpo con un agente de derivatización orgánico que es capaz de reaccionar con cadenas laterales seleccionadas o residuos amino- o carboxilo-terminales.

La retirada de cualquier resto de hidrato de carbono presente en el anticuerpo puede lograrse de manera química o enzimática. La desglicosilación química se describe por Hakimuddin *et al.*, 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259:52 y por Edge *et al.*, 1981, Anal. Biochem., 118:131. La escisión enzimática de restos de hidrato de carbono en los anticuerpos puede lograrse mediante el uso de una variedad de endo- y exo-glicosidasas tal como se describe por Thotakura *et al.*, 1987, Met. Enzymol 138:350.

Otro tipo de modificación covalente útil comprende unir el anticuerpo a uno de una variedad de polímeros no proteicos, por ejemplo, polietilenglicol, polipropilenglicol o polioxiálquilenos, de la manera expuesta en una o más de la patente estadounidense n.º 4.640.835, la patente estadounidense n.º 4.496.689, la patente estadounidense n.º 4.301.144, la patente estadounidense n.º 4.670.417, la patente estadounidense n.º 4.791.192 y la patente estadounidense n.º 4.179.337.

Variantes de secuencias de aminoácidos y humanización

Pueden prepararse variantes de secuencias de aminoácidos del anticuerpo anti-IL-23p19 introduciendo cambios de nucleótidos apropiados en el ADN del anticuerpo anti-IL-23p19, o mediante síntesis peptídica. Tales variantes incluyen, por ejemplo, deleciones de y/o inserciones en y/o sustituciones de residuos dentro de las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos anti-IL-23p19 de los ejemplos en el presente documento. Cualquier combinación de deleciones, inserciones y sustituciones se realiza para llegar al constructo final, siempre que el constructo final presente las características deseadas. Los cambios de aminoácidos también pueden alterar los procesos posteriores a la traducción del anticuerpo anti-IL-23p19 variante o humanizado, tal como el cambio en el número o la posición de sitios de glicosilación.

Un método útil para la identificación de determinados residuos o regiones del anticuerpo anti-IL-23p19 que son ubicaciones preferidas para la mutagénesis se denomina "mutagénesis de exploración con alanina", tal como se describe por Cunningham y Wells (Science, 244:1081-1085 (1989)). En este caso, se identifica un residuo o grupo de residuos diana (por ejemplo, residuos cargados tales como arg, asp, his, lys y glu) y se reemplaza por un aminoácido neutro o cargado negativamente (normalmente alanina) para afectar a la interacción de los aminoácidos con el antígeno de IL-23p19. Después se refinan esas ubicaciones de aminoácidos, que demuestran una sensibilidad funcional a las sustituciones, introduciendo variantes adicionales u otras en, o para, los sitios de sustitución. Por tanto,

aunque el sitio para introducir una variación de secuencia de aminoácidos es predeterminado, no es necesario predeterminar la propia naturaleza de la mutación. Por ejemplo, para analizar el rendimiento de una mutación en un sitio dado, se lleva a cabo mutagénesis de exploración con alanina o al azar en el codón o la región diana y se seleccionan las variantes de anticuerpo anti-IL-23p19 expresadas en función de la actividad deseada.

Las inserciones en las secuencias de aminoácidos incluyen fusiones amino- y/o carboxilo-terminales que varían en cuanto a longitud desde un residuo hasta polipéptidos que contienen cien o más residuos, así como inserciones intrasecuenciales de un único o múltiples residuos de aminoácido. Los ejemplos de inserciones terminales incluyen un anticuerpo anti-IL-23p19 fusionado con una etiqueta de epítipo. Otras variantes de inserción de la molécula de anticuerpo anti-IL-23p19 incluyen una fusión de una enzima o un polipéptido con el extremo N- o C-terminal del anticuerpo anti-IL-23p19 que aumenta la semivida sérica del anticuerpo.

Otro tipo de variante es una variante de sustitución de aminoácidos. Estas variantes tienen al menos un residuo de aminoácido eliminado en la molécula de anticuerpo anti-IL-23p19 y un residuo diferente insertado en su lugar. Los sitios de mayor interés para la mutagénesis de sustitución incluyen las regiones hipervariables, pero también se contemplan las alteraciones de FR. En la tabla 8 se muestran las sustituciones conservadoras bajo el encabezado de "sustituciones preferidas". Si tales sustituciones dan como resultado un cambio en la actividad biológica, entonces pueden introducirse más cambios sustanciales, denominados "sustituciones a modo de ejemplo", o tal como se describe adicionalmente a continuación en referencia a las clases de aminoácido, y seleccionarse los productos.

Tabla 8:

Residuo original	Sustituciones a modo de ejemplo	Sustituciones preferidas
Ala (A)	val	val; leu; ile
Arg (R)	lys	lys; gln; asn
Asn (N)	gln	gln; his; asp, lys; arg
Asp (D)	glu	glu; asn
Cys (C)	ser	ser; ala
Gln (Q)	asn	asn; glu
Glu (E)	asp	asp; gln
Gly (G)	ala	ala
His (H)	arg	arg; asn; gln; lys
Ile (I)	leu	leu; val; met; ala; phe; norleucina
Leu (L)	ile	ile; norleucina; val; met; ala; phe
Lys (K)	arg	arg; gln; asn
Met (M)	leu	leu; phe; ile
Phe (F)	tyr	tyr; leu; val; ile; ala;
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr(T)	ser	ser
Trp (W)	tyr	tyr; phe
Tyr (Y)	phe	phe; trp; thr; ser
Val (V)	leu	leu; ile; met; phe; ala; norleucina

En la química de proteínas, generalmente se acepta que las propiedades biológicas del anticuerpo pueden lograrse seleccionando sustituciones que difieren significativamente en su efecto sobre mantener (a) la estructura de la cadena principal del polipéptido en la zona de la sustitución, por ejemplo, como conformación de lámina o hélice, (b) la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio diana, o (c) el volumen de la cadena lateral. Los residuos que se producen de manera natural se dividen en grupos basándose en propiedades comunes de la cadena lateral:

(1) hidrófobos: norleucina, met, ala, val, leu, ile;

(2) hidrófilos neutros: cys, ser, thr;

(3) ácidos: asp, glu;

(4) básicos: asn, gln, his, lys, arg;

(5) residuos que influyen en la orientación de la cadena: gly, pro; y

(6) aromáticos: trp, tyr, phe.

5 Las sustituciones no conservadoras implicarán intercambiar un miembro de una de estas clases por otra clase.

También puede sustituirse cualquier residuo de cisteína no implicado en mantener la conformación apropiada del anticuerpo anti-IL-23p19 variante o humanizado, generalmente con serina, para mejorar la estabilidad oxidativa de la molécula, impedir una reticulación aberrante o dotar de puntos de conjugación establecidos a un compuesto citotóxico o citostático. A la inversa, puede(n) añadirse un(os) enlace(s) de cisteína al anticuerpo para mejorar su estabilidad (particularmente cuando el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo tal como un fragmento Fv).

Un tipo de variante de sustitución implica sustituir uno o más residuos de región hipervariable de un anticuerpo parental (por ejemplo, un anticuerpo humanizado o humano). Generalmente, la(s) variante(s) resultante(s) seleccionada(s) para su desarrollo adicional tendrán propiedades mejoradas en relación con el anticuerpo parental a partir del cual se genera(n). Una manera conveniente para generar tales variantes de sustitución es maduración por afinidad usando visualización en fagos. En resumen, se mutan varios sitios de región hipervariable (por ejemplo, 6-7 sitios) para generar todas las posibles sustituciones de amino en cada sitio. Las variantes de anticuerpo generadas de ese modo se visualizan de manera monovalente a partir de partículas de fago filamentosas como fusiones con el producto del gen III de M13 empaquetado dentro de cada partícula. Luego se seleccionan las variantes visualizadas en fagos en función de su actividad biológica (por ejemplo, afinidad de unión). Con el fin de identificar sitios de región hipervariable candidatos para la modificación, puede realizarse mutagénesis de exploración con alanina para identificar residuos de región hipervariable que contribuyen significativamente a la unión al antígeno. Alternativamente, o además, puede ser beneficioso analizar una estructura cristalina del complejo antígeno-anticuerpo para identificar puntos de contacto entre el anticuerpo e IL-23p19 humana. Tales residuos de contacto y los residuos adyacentes son candidatos para la sustitución según las técnicas elaboradas en el presente documento. Una vez generadas tales variantes, se somete el panel de variantes a selección tal como se describe en el presente documento, y los anticuerpos con propiedades superiores en uno o más ensayos relevantes pueden seleccionarse para su desarrollo adicional.

Otro tipo de variante de aminoácidos del anticuerpo altera el patrón de glicosilación original del anticuerpo. Por "alterar" se entiende delecionar uno o más restos de hidrato de carbono hallados en el anticuerpo y/o añadir uno o más sitios de glicosilación que no están presentes en el anticuerpo.

En algunos aspectos de referencia, puede ser deseable modificar los anticuerpos de la invención para añadir sitios de glicosilaciones. Normalmente, la glicosilación de anticuerpos o bien está unida a N o bien está unida a O. Unida a N se refiere a la unión del resto de hidrato de carbono a la cadena lateral de un residuo de asparagina. Las secuencias tripeptídicas asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, en las que X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática del resto de hidrato de carbono a la cadena lateral de asparagina. Por tanto, la presencia de cualquiera de estas secuencias tripeptídicas en un polipéptido crea un posible sitio de glicosilación. La glicosilación unida a O se refiere a la unión de uno de los azúcares N-acetilgalactosamina, galactosa o xilosa a un hidroxiaminoácido, lo más habitualmente serina o treonina, aunque también puede usarse 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina. Por tanto, con el fin de glicosilar una proteína dada, por ejemplo, un anticuerpo, se modifica por ingeniería la secuencia de aminoácidos de la proteína para contener una o más de las secuencias tripeptídicas anteriormente descritas (para los sitios de glicosilación unida a N). La alteración también puede realizarse mediante la adición de, o sustitución por, uno o más residuos de serina o treonina en la secuencia del anticuerpo original (para los sitios de glicosilación unida a O).

Las moléculas de ácido nucleico que codifican para variantes de secuencias de aminoácidos del anticuerpo anti-IL-23p19 se preparan mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica. Estos métodos incluyen, pero no se limitan a, aislamiento a partir de una fuente natural (en el caso de variantes de secuencias de aminoácidos que se producen de manera natural) o preparación mediante mutagénesis mediada por oligonucleótidos (o dirigida al sitio), mutagénesis por PCR y mutagénesis en casete de una variante anteriormente preparada o una versión no variante del anticuerpo anti-IL-23p19.

Polinucleótidos, vectores, células huésped y métodos recombinantes

Otros aspectos de referencia abarcan polinucleótidos aislados que comprenden una secuencia que codifica para un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado, vectores y células huésped que comprenden los polinucleótidos y técnicas recombinantes para la producción del anticuerpo humanizado. Los polinucleótidos aislados pueden codificar para cualquier forma deseada del anticuerpo anti-IL-23p19, incluyendo, por ejemplo, anticuerpos monoclonales de longitud completa, fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv, dímeros, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo de cadena sencilla y anticuerpos multispecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

Algunos aspectos de referencia incluyen polinucleótidos aislados que comprenden secuencias que codifican para la región variable de cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos

- de cualquiera de SEQ ID NO:84, 86, 88, 90, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117 ó 119. Secuencias de polinucleótido a modo de ejemplo que codifican para tales secuencias de aminoácidos son SEQ ID NO:83, 85, 87, 89, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116 y 118. Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que comprenden secuencias que codifican para la región variable de cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:121, 123, 125, 127, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154 ó 156. Secuencias de polinucleótido a modo de ejemplo que codifican para tales secuencias de aminoácidos son SEQ ID NO:120, 122, 124, 126, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153 ó 155.
- Algunos aspectos de referencia incluyen polinucleótidos aislados que comprenden secuencias que codifican para la región variable de cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO:158, 160, 162 ó 164. Secuencias de polinucleótido a modo de ejemplo que codifican para tales secuencias de aminoácidos son SEQ ID NO:157, 159, 161 ó 163. Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que comprenden secuencias que codifican para la región variable de cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:166, 168, 170 ó 172. Secuencias de polinucleótido a modo de ejemplo que codifican para tales secuencias de aminoácidos son SEQ ID NO:165, 167, 169 ó 171.
- Algunos aspectos de referencia incluyen polinucleótidos aislados que comprenden secuencias que codifican para la cadena ligera de un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO:174 ó 180. Secuencias de polinucleótido a modo de ejemplo que codifican para tales secuencias de aminoácidos son SEQ ID NO:173 ó 179. Algunos aspectos de referencia incluyen polinucleótidos aislados que comprenden secuencias que codifican para la cadena pesada de un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:176 ó 178. Secuencias de polinucleótido a modo de ejemplo que codifican para tales secuencias de aminoácidos son SEQ ID NO:175 ó 177.
- En un aspecto, la secuencia(s) de polinucleótido aislado codifica(n) para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene una región variable de cadena ligera y una de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO:174 y SEQ ID NO:176, respectivamente; SEQ ID NO:174 y SEQ ID NO:178, respectivamente; SEQ ID NO:180 y SEQ ID NO:176, respectivamente; SEQ ID NO:180 y SEQ ID NO:178, respectivamente. Secuencias de polinucleótido a modo de ejemplo que codifican para tales secuencias de aminoácidos son SEQ ID NO:173 y 175, respectivamente, SEQ ID NO:173 y 177, respectivamente, SEQ ID NO:179 y 175, respectivamente, SEQ ID NO:179 y 177, respectivamente.
- El/los polinucleótido(s) que comprende(n) una secuencia que codifica para un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o un fragmento o una cadena del mismo puede(n) fusionarse con una o más secuencias reguladoras o de control, tal como se conoce en la técnica, y puede(n) estar contenido(s) en vectores de expresión o células huésped adecuados tal como se conoce en la técnica. Cada una de las moléculas de polinucleótido que codifican para los dominios variables de cadena pesada o ligera pueden fusionarse independientemente con una secuencia de polinucleótido que codifica para un dominio constante, tal como un dominio constante humano, lo que permite la producción de anticuerpos intactos. Alternativamente, pueden fusionarse entre sí polinucleótidos, o porciones de los mismos, proporcionando un molde para la producción de un anticuerpo de cadena sencilla.
- Para la producción recombinante, se inserta un polinucleótido que codifica para el anticuerpo en un vector replicable para la clonación (amplificación del ADN) o para la expresión. Hay disponibles muchos vectores adecuados para expresar el anticuerpo recombinante. Los componentes del vector generalmente incluyen, pero no se limitan a, uno o más de los siguientes: una secuencia señal, un origen de replicación, uno o más genes marcadores, un elemento potenciador, un promotor y una secuencia de terminación de transcripción.
- Los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados también puede producirse como polipéptidos de fusión, en los que el anticuerpo se fusiona con un polipéptido heterólogo, tal como una secuencia señal u otro polipéptido que tiene un sitio de escisión específico en el extremo amino-terminal de la proteína o el polipéptido maduros. La secuencia señal heteróloga seleccionada es normalmente una que la célula huésped reconoce y procesa (es decir, escindida por una peptidasa señal). Para células huésped procariotas que no reconocen ni procesan la secuencia señal del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado, la secuencia señal puede sustituirse por una secuencia señal procariota. La secuencia señal puede ser, por ejemplo, fosfatasa alcalina, penicilinas, lipoproteína, compuestos de partida de enterotoxina II termoestables, y similares. Para la secreción de levaduras, la secuencia señal nativa puede sustituirse, por ejemplo, por una secuencia líder obtenida a partir del factor alfa de la invertasa de levadura (incluyendo compuestos de partida del factor α de *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*), fosfatasa ácida, glucoamilasa de *C. albicans*, o la señal descrita en el documento WO90/13646. En células de mamífero, pueden usarse secuencias señal de mamífero así como líderes secretores virales, por ejemplo, la señal de gD del virus del herpes simple. El ADN para tal región precursora se liga en marco de lectura al ADN que codifica para el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado.
- Los vectores de expresión y clonación contienen una secuencia de ácido nucleico que permite la replicación del vector en una o más células huésped seleccionadas. Generalmente, en los vectores de clonación, esta secuencia es una que permite la replicación del vector independientemente del ADN cromosómico huésped, e incluye orígenes de

replicación o secuencias de replicación autónoma. Tales secuencias se conocen bien para una variedad de bacterias, levaduras y virus. El origen de replicación del plásmido pBR322 es adecuado para la mayoría de bacterias Gram-negativas, el origen del plásmido 2- ϕ es adecuado para levaduras, y diversos orígenes virales (VS40, poliovirus, adenovirus, VEV y VPB) son útiles para clonar vectores en células de mamífero.

Generalmente, el componente de origen de replicación no es necesario para vectores de expresión de mamífero (el origen de VS40 puede usarse normalmente sólo porque contiene el promotor temprano).

Los vectores de expresión y clonación pueden contener un gen que codifica para un marcador seleccionable para facilitar la identificación de expresión. Los marcadores de genes seleccionables típicos codifican para proteínas que confieren resistencia a los antibióticos u otras toxinas, por ejemplo, ampicilina, neomicina, metotrexato o tetraciclina, o, alternativamente, son deficiencias auxotróficas del complemento, o, en otras alternativas, suministran nutrientes específicos que no están presentes en medios complejos, por ejemplo, el gen que codifica para D-alanina racemasa para *Bacilli*.

Un ejemplo de un esquema de selección utiliza un fármaco para detener el crecimiento de una célula huésped. Estas células que se transforman con éxito con un gen heterólogo producen una proteína que confiere farmacoresistencia y, por tanto, sobreviven al régimen de selección. Los ejemplos de tal selección dominante usando los fármacos neomicina, ácido micofenólico e higromicina. Marcadores seleccionables habituales para células de mamífero son aquellos que permiten la identificación de células competentes para captar un ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado, tal como DHFR (dihidrofolato reductasa), timidina cinasa, metalotioneína-I y -II (tal como los genes de metalotioneína de primate), adenosina desaminasa, ornitina descarboxilasa, y similares. Las células transformadas con el gen de selección DHFR se identifican en primer lugar cultivando todos los transformantes en un medio de cultivo que contiene metotrexato (Mtx), un antagonista competitivo de DHFR. Una célula huésped apropiada cuando se emplea DHFR de tipo natural es la línea celular de ovario de hámster chino (CHO) deficiente en actividad DHFR (por ejemplo, DG44).

Alternativamente, pueden seleccionarse células huésped (particularmente huéspedes de tipo natural que contienen DHFR endógeno) transformadas o transformadas conjuntamente con secuencias de ADN que codifican para el anticuerpo anti-IL-23p19, la proteína DHFR de tipo natural y otro marcador seleccionable tal como aminoglicósido 3'-fosfotransferasa (APH), mediante crecimiento celular en medio que contiene un agente de selección para el marcador seleccionable, tal como un antibiótico aminoglicosídico, por ejemplo, kanamicina, neomicina o G418. Véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 4.965.199.

Cuando la producción recombinante se realiza en una célula de levadura como célula huésped, puede usarse el gen TRP1 presente en el plásmido de levadura YRp7 (Stinchcomb *et al.*, 1979, Nature 282: 39) como marcador seleccionable. El gen TRP1 proporciona un marcador de selección para una cepa mutante de levadura que carece de la capacidad para crecer en triptófano, por ejemplo, ATCC n.º 44076 o PEP4-1 (Jones, 1977, Genetics 85:12). La presencia de la lesión trp1 en el genoma de la célula huésped de levadura proporciona entonces un entorno eficaz para detectar la transformación por crecimiento en ausencia de triptófano. De manera similar, las cepas de levadura deficientes en Leu2p, tales como ATCC 20.622 y 38.626, se complementan mediante plásmidos conocidos que portan el gen LEU2.

Además, pueden usarse vectores derivados del plásmido circular de 1,6 μ m pKD1 para la transformación de levaduras *Kluyveromyces*. Alternativamente, se notificó un sistema de expresión para la producción a gran escala de quimosina de ternero recombinante para *K. lactis* (Van den Berg, 1990, Bio/Technology 8:135). También se han divulgado vectores de expresión de múltiples copias estables para la secreción de albúmina sérica humana recombinante madura por cepas industriales de *Kluyveromyces* (Fleer *et al.*, 1991, Bio/Technology 9:968-975).

Los vectores de expresión y clonación contienen habitualmente un promotor que el organismo huésped reconoce y que está operativamente unido a la molécula de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IL-23p19 o una cadena polipeptídica del mismo. Los promotores adecuados para su uso con huéspedes procariotas incluyen promotor phoA, sistemas promotores de β -lactamasa y lactosa, fosfatasa alcalina, sistema promotor de triptófano (trp) y promotores híbridos tales como el promotor tac. También son adecuados otros promotores bacterianos conocidos. Los promotores para su uso en sistemas bacterianos también contendrán una secuencia de Shine-Dalgarno (S.D.) operativamente unida al ADN que codifica para el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado.

Se conocen muchas secuencias promotoras eucariotas. Prácticamente todos los genes eucariotas tienen una región rica en AT ubicada de aproximadamente 25 a 30 bases en el sentido de 5' desde el sitio en el que se inicia la transcripción. Otra secuencia hallada de 70 a 80 bases en el sentido de 5' desde el inicio de la transcripción de muchos genes es una región CNCAAT, en la que N puede ser cualquier nucleótido. En el extremo 3' de la mayoría de los genes eucariotas hay una secuencia AATAAA que puede ser la señal para la adición de la cola de poliA al extremo 3' de la secuencia codificante. Todas estas secuencias se insertan de manera adecuada en vectores de expresión eucariotas.

Los ejemplos de secuencias promotoras adecuadas para su uso con huéspedes de levadura incluyen los promotores

para 3-fosfoglicerato cinasa u otras enzimas glicolíticas, tales como enolasa, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, hexocinasa, piruvato descarboxilasa, fosfofructocinasa, glucosa-6-fosfato isomerasa, 3-fosfoglicerato mutasa, piruvato cinasa, triosefosfato isomerasa, fosfoglucosa isomerasa y glucocinasa.

Los promotores inducibles tienen la ventaja adicional de que controlan la transcripción mediante las condiciones de crecimiento. Estos incluyen regiones promotoras de levadura para alcohol deshidrogenasa 2, isocitocromo C, fosfatasa ácida, enzimas derivadas asociadas con el metabolismo de nitrógeno, metalotioneína, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa y enzimas responsables de la utilización de maltosa y galactosa. Los vectores y promotores adecuados para su uso en la expresión de levaduras se describen adicionalmente en el documento EP 73.657. También se usan ventajosamente potenciadores de levadura con promotores de levadura.

La transcripción del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado a partir de vectores en células huésped de mamífero se controla, por ejemplo, mediante promotores obtenidos a partir de los genomas de virus tales como el virus del polio, virus de la viruela aviar, adenovirus (tal como adenovirus 2), virus del papiloma bovino, virus del sarcoma aviar, citomegalovirus, un retrovirus, virus de la hepatitis B y virus de simio 40 (VS40), a partir de promotores de mamíferos heterólogos, por ejemplo, el promotor de actina o un promotor de inmunoglobulina, o a partir de promotores de choque térmico, siempre que tales promotores sean compatibles con los sistemas de células huésped.

Los promotores temprano y tardío del virus VS40 se obtienen de manera conveniente como fragmento de restricción de VS40 que también contiene el origen de replicación viral de VS40. El promotor temprano inmediato del citomegalovirus humano se obtiene de manera conveniente como fragmento de restricción de HindIII E. En la patente estadounidense n.º 4.419.446 se divulga un sistema para la expresión de ADN en huéspedes mamíferos usando el virus del papiloma bovino como vector. En la patente estadounidense n.º 4.601.978 se describe una modificación de este sistema. Véase también Reyes *et al.*, 1982, Nature 297:598-601, que divulga la expresión de ADNc de p-interferón humano en células de ratón bajo el control de un promotor de timidina cinasa a partir del virus del herpes simple. Alternativamente, puede usarse como promotor la repetición terminal larga del virus del sarcoma de Rous.

Otro elemento útil que puede usarse en un vector de expresión recombinante es una secuencia potenciadora, que se usa para aumentar la transcripción de un ADN que codifica para un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado por eucariotas superiores. Ahora se conocen muchas secuencias potenciadoras de genes de mamífero (por ejemplo, globina, elastasa, albúmina, α -fetoproteína e insulina). Sin embargo, normalmente se usa un potenciador de un virus de células eucariotas. Los ejemplos incluyen el potenciador de VS40 en el lado tardío del origen de replicación (100-270 pb), el potenciador del promotor temprano de citomegalovirus, el potenciador de polio en el lado tardío del origen de replicación y potenciadores de adenovirus. Véase también Yaniv, 1982, Nature 297:17-18 para una descripción de elementos de potenciación para la activación de promotores eucariotas. El potenciador puede experimentar corte y empalme para dar el vector en una posición 5' ó 3' con respecto a la secuencia que codifica para el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado, pero está ubicado preferiblemente en un sitio 5' desde el promotor.

Los vectores de expresión usados en células huésped eucariotas (células nucleadas de levaduras, hongos, insectos, vegetales, animales, humanas o de otros organismos multicelulares) también pueden contener secuencias necesarias para la terminación de transcripción y para estabilizar el ARNm. Tales secuencias están disponibles habitualmente a partir de las regiones no traducidas 5', y en ocasiones 3', de ADNc o ADN virales o eucariotas. Estas regiones contienen segmentos de nucleótidos transcritos como fragmentos poliadenilados en la porción no traducida del ARNm que codifica para el anticuerpo anti-IL-23p19. Un componente de terminación de transcripción útil es la región de poliadenilación de la hormona del crecimiento bovina. Véase el documento WO94/11026 y el vector de expresión divulgado en el mismo. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados pueden expresarse usando el sistema CHEF (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5.888.809; cuya divulgación se incorpora como referencia al presente documento).

Células huésped adecuadas para clonar o expresar el ADN en los vectores en el presente documento son las células procariotas, de levaduras o eucariotas superiores descritas anteriormente. Los procariotas adecuados para este propósito incluyen eubacterias, tales como organismos Gram-negativos o Gram-positivos, por ejemplo, *Enterobacteriaceae* tal como *Escherichia*, por ejemplo, *E. coli*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, por ejemplo, *Salmonella typhimurium*, *Serratia*, por ejemplo, *Serratia marcescans*, y *Shigella*, así como *Bacilli* tal como *B. subtilis* y *B. licheniformis* (por ejemplo, *B. licheniformis* 41 P divulgado en DD 266.710 publicado el 12 de abril de 1989), *Pseudomonas* tales como *P. aeruginosa*, y *Streptomyces*. Un huésped de clonación de *E. coli* preferido es *E. coli* 294 (ATCC 31.446), aunque son adecuadas otras cepas tales como *E. coli* B, *E. coli* X1776 (ATCC 31.537) y *E. coli* W3110 (ATCC 27.325). Estos ejemplos son ilustrativos más que limitativos.

Además de procariotas, los microbios eucariotas tales como hongos y levaduras filamentosos son huéspedes de clonación o expresión adecuados para vectores que codifican para el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado. Lo más habitualmente, se usa *Saccharomyces cerevisiae*, o levadura de cerveza habitual, entre los microorganismos huéspedes eucariotas inferiores. Sin embargo, habitualmente hay disponibles varios otros géneros, especies y cepas y son útiles en el presente documento, tales como *Schizosaccharomyces pombe*; huéspedes de Kluyveromyces tales como, por ejemplo, *K. lactis*, *K. fragilis* (ATCC 12.424), *K. bulgaricus* (ATCC 16.045), *K. wickerhamii* (ATCC 24.178), *K. waltii* (ATCC 56.500), *K. drosophilum* (ATCC 36.906), *K. thermotolerans* y *K. marxianus*; *yarrowia* (documento EP

402.226); *Pichia pastoris* (documento EP 183.070); *Candida*; *Trichoderma reesei* (documento EP 244.234); *Neurospora crassa*; *Schwanniomyces* tales como *Schwanniomyces occidentalis*; y hongos filamentosos tales como, por ejemplo, huéspedes de *Neurospora*, *Penicillium*, *Tolypocladium* y *Aspergillus* tales como *A. nidulans* y *A. niger*.

Las células huésped adecuadas para la expresión del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado glicosilado derivan de organismos multicelulares. Los ejemplos de células de invertebrados incluyen células vegetales y de insectos, incluyendo, por ejemplo, numerosas cepas y variantes baculovirales y células huésped de insecto permisivas correspondientes de huéspedes tales como *Spodoptera frugiperda* (oruga), *Aedes aegypti* (mosquito), *Aedes albopictus* (mosquito), *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta) y *Bombyx mori* (gusano de seda). Hay disponible públicamente una variedad de cepas virales para la transfección, por ejemplo, la variante L-1 de *Autographa californica* NPV y la cepa Bm-5 de *Bombyx mori* NPV, y tales virus pueden usarse particularmente para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*.

También pueden utilizarse como huéspedes cultivos de células vegetales de algodón, maíz, patata, soja, petunia, tomate y tabaco.

En otro aspecto, la expresión del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado se lleva a cabo en células de vertebrados. La propagación de células de vertebrados en cultivo (histocultivo) se ha convertido en un procedimiento de rutina, y hay técnicas ampliamente disponibles. Ejemplos de líneas de células huésped de mamífero útiles son la línea CV1 de riñón de mono transformada por VS40 (COS-7, ATCC CRL 1651), línea de riñón embrionario humano (células 293 o 293 subclonadas para el crecimiento en cultivo en suspensión (Graham *et al.*, 1977, J. Gen Virol. 36: 59), células de riñón de cría de hámster (BHK, ATCC CCL 10), células de ovario de hámster chino-DHFR1 (CHO, Urlaub *et al.*, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216; por ejemplo, DG44), células de Sertoli de ratón (TM4, Mather, 1980, Biol. Reprod. 23:243-251), células de riñón de mono (CV1, ATCC CCL 70), células de riñón de mono verde africano (VERO-76, ATCC CRL-1587), células de carcinoma de cuello uterino humano (HELA, ATCC CCL 2), células de riñón de canino (MDCK, ATCC CCL 34), células de hígado de rata búfalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442), células de pulmón humano (W138, ATCC CCL 75), células de hígado humano (Hep G2, HB 8065), tumor mamario de ratón (MMT 060562, ATCC CCL51), células TR1 (Mather *et al.*, 1982, Annals N.Y. Acad. Sci. 383: 44-68), células MRC 5, células FS4 y línea de hepatoma humano (Hep G2).

Las células huésped se transforman con los vectores de expresión o clonación anteriormente descritos para la producción del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado y se cultivan en medios de nutrientes convencionales modificados según sea apropiado para inducir los promotores, seleccionar los transformantes o amplificar los genes que codifican para las secuencias deseadas.

Las células huésped usadas para producir un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado descrito en el presente documento pueden cultivarse en una variedad de medios. Medios comercialmente disponibles tales como F10 de Ham (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Mo.), medio esencial mínimo (MEM) (Sigma-Aldrich Co.), RPMI-1640 (Sigma-Aldrich Co.) y medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) (Sigma-Aldrich Co.) son adecuados para cultivar las células huésped. Además, puede usarse cualquiera de los medios descritos en uno o más de Ham *et al.*, 1979, Met. Enz. 58: 44, Barnes *et al.*, 1980, Anal. Biochem. 102: 255, la patente estadounidense n.º 4.767.704, la patente estadounidense n.º 4.657.866, la patente estadounidense n.º 4.927.762, la patente estadounidense n.º 4.560.655, la patente estadounidense n.º 5.122.469, el documento WO 90/103430 y el documento WO 87/00195 como medio de cultivo para las células huésped. Cualquiera de estos medios puede complementarse según sea necesario con hormonas y/u otros factores de crecimiento (tales como insulina, transferrina o factor de crecimiento epidérmico), sales (tales como cloruro de sodio, calcio, magnesio y fosfato), tampones (tales como HEPES), nucleótidos (tales como adenosina y timidina), antibióticos (tales como gentamicina), oligoelementos (definidos como compuestos inorgánicos presentes habitualmente en concentraciones finales en el intervalo micromolar) y glucosa o una fuente de energía equivalente. También pueden incluirse otros complementos en concentraciones apropiadas que conocerían los expertos en la técnica. Las condiciones de cultivo, tales como la temperatura, el pH, y similares, son aquellas previamente usadas con la célula huésped seleccionada para la expresión, y resultarán evidentes para el experto habitual en la técnica.

Cuando se usan técnicas recombinantes, el anticuerpo puede producirse de manera intracelular, en el espacio periplásmico, o secretarse directamente al medio. Si el anticuerpo se produce de manera intracelular, las células pueden alterarse para liberar proteína como primera etapa. El residuo particulado, ya sean células huésped o fragmentos lisados, puede retirarse, por ejemplo, mediante centrifugación o ultrafiltración. Carter *et al.*, 1992, Bio/Technology 10:163-167 describen un procedimiento para aislar anticuerpos que se secretan al espacio periplásmico de *E. coli*. En resumen, se descongela la pasta celular en presencia de acetato de sodio (pH 3,5), EDTA y fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF) durante aproximadamente 30 minutos. El residuo celular puede retirarse mediante centrifugación. Cuando el anticuerpo se secreta al medio, los sobrenadantes de tales sistemas de expresión se concentran generalmente en primer lugar usando un filtro de concentración de proteína comercialmente disponible, por ejemplo, una unidad de ultrafiltración Amicon o Millipore Pellicon. Puede incluirse un inhibidor de proteasas tal como PMSF en cualquiera de las etapas anteriores para inhibir la proteólisis y pueden incluirse antibióticos para impedir el crecimiento de contaminantes accidentales. Pueden usarse una variedad de métodos para aislar el anticuerpo a partir de la célula huésped.

La composición de anticuerpo preparada a partir de las células puede purificarse usando, por ejemplo, cromatografía de hidroxipatita, electroforesis en gel, diálisis y cromatografía de afinidad, siendo la cromatografía de afinidad una técnica de purificación típica. La idoneidad de la proteína A como ligando de afinidad depende de la especie y del isotipo de cualquier dominio Fc de inmunoglobulina que esté presente en el anticuerpo. Puede usarse la proteína A para purificar anticuerpos que están basados en las cadenas pesadas gamma1, gamma2 o gamma4 humanas (véase, por ejemplo, Lindmark *et al.*, 1983 J. Immunol. Met. 62:1-13). Se recomienda la proteína G para todos los isotipos de ratón y para gamma3 humana (véase, por ejemplo, Guss *et al.*, 1986 EMBO J. 5:1567-1575). Una matriz a la que se une un ligando de afinidad suele ser agarosa, pero hay disponibles otras matrices. Las matrices mecánicamente estables tales como vidrio de tamaño de poro controlado o poli(estirendivinil)benceno permiten velocidades de flujo más rápidas y tiempos de procesamiento más cortos que los que pueden lograrse con la agarosa. Cuando el anticuerpo comprende un dominio C_{H3}, la resina Bakerbond ABX™ (J. T. Baker, Phillipsburg, N.J.) es útil para la purificación. También hay disponibles otras técnicas para la purificación de proteínas, tales como fraccionamiento en una columna de intercambio iónico, precipitación con etanol, HPLC de fase inversa, cromatografía sobre sílice, cromatografía sobre heparina, cromatografía con SEPHAROSE™ sobre una resina de intercambio aniónico o catiónico (tal como una columna de poli(ácido aspártico)), cromatofenofoco, SDS-PAGE y precipitación con sulfato de amonio, dependiendo del anticuerpo que va a recuperarse.

Tras cualquiera de las etapas de purificación preliminares, puede someterse la mezcla que comprende el anticuerpo de interés y contaminantes a cromatografía de interacción hidrófoba a bajo pH usando un tampón de elución a un pH de entre aproximadamente 2,5-4,5, normalmente realizada a bajas concentraciones de sal (por ejemplo, desde aproximadamente 0-0,25 M de sal).

También se incluyen ácidos nucleicos que se hibridan en condiciones de baja, moderada y alta rigurosidad, tal como se define en el presente documento, con la totalidad o una porción (por ejemplo, la porción que codifica para la región variable) de la secuencia de nucleótidos representada por la(s) secuencia(s) de polinucleótido aislado que codifica(n) para un anticuerpo de la presente invención. La porción de hibridación del ácido nucleico que se hibrida tiene normalmente una longitud de al menos 15 (por ejemplo, 20, 25, 30 ó 50) nucleótidos. La porción de hibridación del ácido nucleico que se hibrida es al menos el 80%, por ejemplo, al menos el 90%, al menos el 95% o al menos el 98%, idéntica a la secuencia de una porción o la totalidad de un ácido nucleico que codifica para un polipéptido anti-IL-23p19 (por ejemplo, una región variable de cadena pesada o cadena ligera) o su complemento. Los ácidos nucleicos que se hibridan del tipo descrito en el presente documento pueden usarse, por ejemplo, como sonda de clonación, cebador, por ejemplo, cebador de PCR, o sonda diagnóstica.

Algunos aspectos de referencia incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO:84, 86, 88, 90, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117 ó 119, y que es al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% idéntica a las secuencias de polinucleótido de SEQ ID NO:83, 85, 87, 89, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116 ó 118.

Algunos aspectos de referencia incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO:158, 160, 162 ó 164, y que es al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% idéntica a las secuencias de polinucleótido de SEQ ID NO:157, 159, 161 ó 163.

Algunos aspectos de referencia incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO:121, 123, 125, 127, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154 ó 156, y que es al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% idéntica a las secuencias de polinucleótido de SEQ ID NO:120, 122, 124, 126, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153 ó 155.

Algunos aspectos de referencia incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO:166, 168, 170 ó 172, y que es al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% idéntica a las secuencias de polinucleótido de SEQ ID NO:165, 167, 169 ó 171.

Algunos aspectos de referencia incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera que es al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO:84, 86, 88, 90, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117 ó 119. Algunos aspectos de referencia incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera que es al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO:158, 160, 162 ó 164. Algunos aspectos de referencia incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada que es al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera

de SEQ ID NO:121, 123, 125, 127, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154 ó 156. Algunos aspectos de referencia incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada que es al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO:166, 168, 170 ó 172. Tal como se usa en el presente documento, los términos "idéntico" o "porcentaje de identidad", en el contexto de dos o más ácidos nucleicos o secuencias de polipéptido, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje especificado de nucleótidos o residuos de aminoácido que son iguales, cuando se comparan y alinean para una correspondencia máxima. Para determinar el porcentaje de identidad, las secuencias se alinean con propósitos de una correspondencia máxima (por ejemplo, pueden introducirse huecos en la secuencia de una primera secuencia de aminoácidos o de ácido nucleico para una alineación óptima con una segunda secuencia de aminoácidos o de ácido nucleico). Luego se comparan los residuos de aminoácido o nucleótidos en las posiciones de aminoácido o posiciones de nucleótido correspondientes. Cuando una posición en la primera secuencia está ocupada por el mismo residuo de aminoácido o nucleótido que la posición correspondiente en la segunda secuencia, entonces las moléculas son idénticas en esa posición. El porcentaje de identidad entre las dos secuencias es una función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias (es decir, % de identidad = # de posiciones idénticas/# total de posiciones (por ejemplo, posiciones solapantes) x 100). En algunas realizaciones, las dos secuencias que se comparan tienen la misma longitud después de introducir huecos dentro de las secuencias, según sea apropiado (por ejemplo, excluyendo una extensión adicional de la secuencia más allá de las secuencias que están comparándose). Por ejemplo, cuando se comparan secuencias de región variable, no se consideran las secuencias líder y/o de dominio constante. Para las comparaciones de secuencia entre dos secuencias, una CDR "correspondiente" se refiere a una CDR en la misma ubicación en ambas secuencias (por ejemplo, CDR-H1 de cada secuencia).

La determinación del porcentaje de identidad o porcentaje de similitud entre dos secuencias puede lograrse usando un algoritmo matemático. Un ejemplo preferido no limitativo de un algoritmo matemático utilizado para la comparación de dos secuencias es el algoritmo de Karlin y Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268, modificado como en Karlin y Altschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877. Un algoritmo de este tipo se incorpora en los programas NBLAST y XBLAST de Altschul *et al.*, 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410. Las búsquedas de nucleótido según BLAST pueden realizarse con el programa NBLAST, puntuación=100, longitud de palabra=12, para obtener secuencias de nucleótidos homólogas a un ácido nucleico que codifica para una proteína de interés. Las búsquedas de proteínas según BLAST pueden realizarse con el programa XBLAST, puntuación=50, longitud de palabra=3, para obtener secuencias de aminoácidos homólogas a una proteína de interés. Para obtener alineaciones con huecos con propósitos de comparación, puede utilizarse BLAST con huecos tal como se describe en Altschul *et al.*, 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402. Alternativamente, puede usarse PSI-Blast para realizar una búsqueda iterativa que detecta relaciones distantes entre moléculas (Id.). Cuando se utilizan los programas BLAST, BLAST con huecos y PSI-Blast, pueden usarse los parámetros por defecto de los programas respectivos (por ejemplo, XBLAST y NBLAST). Otro ejemplo preferido no limitativo de un algoritmo matemático utilizado para la comparación de secuencias es el algoritmo de Myers y Miller, CABIOS (1989). Un algoritmo de este tipo se incorpora en el programa ALIGN (versión 2.0) que forma parte del paquete de software de alineación de secuencias GCG. Cuando se utiliza el programa ALIGN para comparar secuencias de aminoácidos, pueden usarse una tabla de residuos de peso PAM120, una penalización por longitud de hueco de 12 y una penalización por hueco de 4. En la técnica se conocen algoritmos adicionales para el análisis de secuencias, e incluyen ADVANCE y ADAM tal como se describe en Torellis y Robotti, 1994, Comput. Appl. Biosci. 10:3-5; y FASTA descrito en Pearson y Lipman, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444-8. Dentro de FASTA, ktup es una opción de control que establece la sensibilidad y la velocidad de la búsqueda. Si ktup=2, las regiones similares en las dos secuencias que están comparándose se hallan al observar pares de residuos alineados; si ktup=1, se examinan los aminoácidos alineados individuales. ktup puede establecerse en 2 ó 1 para secuencias de proteínas, o desde 1 hasta 6 para secuencias de ADN. Por defecto, ktup es 2 para proteínas y 6 para ADN si no se especifica. Alternativamente, la alineación de secuencias de proteínas puede llevarse a cabo usando el algoritmo CLUSTAL W, tal como se describe por Higgins *et al.*, 1996, Methods Enzymol. 266:383-402.

Usos no terapéuticos

Los anticuerpos descritos en el presente documento son útiles como agentes de purificación por afinidad. En este procedimiento, los anticuerpos se inmovilizan sobre una fase sólida tal como una resina de proteína A, usando métodos bien conocidos en la técnica. El anticuerpo inmovilizado se pone en contacto con una muestra que contiene la proteína IL-23p19 (o un fragmento de la misma) que va a purificarse y, después de eso, se lava el soporte con un disolvente adecuado que retirará sustancialmente todo el material en la muestra excepto la proteína IL-23p19, que se está unida al anticuerpo inmovilizado. Finalmente, se lava el soporte con otro disolvente adecuado que liberará la proteína IL-23p19 del anticuerpo.

Los anticuerpos anti-IL-23p19, por ejemplo, anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados, también son útiles en ensayos diagnósticos para detectar y/o cuantificar la proteína IL-23, por ejemplo, detectar la expresión de IL-23 en células, tejidos o suero específicos. Los anticuerpos anti-IL-23p19 pueden usarse de manera diagnóstica, por ejemplo, para monitorizar el desarrollo o avance de una enfermedad como parte de un procedimiento de pruebas clínicas, por ejemplo, para determinar la eficacia de un régimen de tratamiento y/o prevención dado. La detección puede facilitarse acoplando el anticuerpo anti-IL-23p19. Los ejemplos de sustancias detectables incluyen diversas enzimas, grupos

prótesis, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes, materiales radiactivos, metales que emiten positrones usando diversas tomografías por emisión de positrones e iones metálicos paramagnéticos no radiactivos. Véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 4.741.900 para los iones metálicos que pueden conjugarse con anticuerpos para su uso como productos de diagnóstico.

Los anticuerpos anti-IL-23p19 pueden usarse en métodos para diagnosticar un trastorno asociado a IL-23 (por ejemplo, un trastorno caracterizado por una expresión anómala de IL-23) o para determinar si un sujeto tiene un riesgo aumentado de desarrollar un trastorno asociado a IL-23. Tales métodos incluyen poner en contacto una muestra biológica de un sujeto con un anticuerpo contra IL-23p19 y detectar la unión del anticuerpo a IL-23p19. Por "muestra biológica" se entiende cualquier muestra biológica obtenida de un individuo, una línea celular, un histocultivo u otra fuente de células que potencialmente expresa IL-23. En la técnica se conocen bien métodos para obtener biopsias de tejido y líquidos corporales a partir de mamíferos.

En algunos aspectos de referencia, el método puede comprender además comparar el nivel de IL-23 en una muestra de paciente con una muestra de control (por ejemplo, un sujeto que no padece un trastorno asociado a IL-23) para determinar si el paciente padece un trastorno asociado a IL-23 o está en riesgo de desarrollar un trastorno asociado a IL-23.

Resultará ventajoso en algunos aspectos de referencia, por ejemplo, con propósitos diagnósticos, marcar el anticuerpo con un resto detectable. Hay disponibles numerosos marcadores detectables, incluyendo radioisótopos, marcadores fluorescentes, marcadores de sustratos enzimáticos, y similares. El marcador puede conjugarse indirectamente con el anticuerpo usando diversas técnicas conocidas.

Por ejemplo, el anticuerpo puede conjugarse con biotina, y cualquiera de las tres amplias categorías de marcadores mencionados anteriormente puede conjugarse con avidina, o viceversa. La biotina se une selectivamente a avidina y, por tanto, el marcador puede conjugarse con el anticuerpo de esta manera indirecta. Alternativamente, para lograr la conjugación indirecta del marcador con el anticuerpo, el anticuerpo puede conjugarse con un hapteno pequeño (tal como digoxina), y uno de los diferentes tipos de marcadores mencionados anteriormente se conjuga con un anticuerpo anti-hapteno (por ejemplo, anticuerpo anti-digoxina). Por tanto, puede lograrse la conjugación indirecta del marcador con el anticuerpo.

Los marcadores radioisotópicos a modo de ejemplo incluyen ^{35}S , ^{14}C , ^{125}I , ^3H y ^{131}I . El anticuerpo puede marcarse con el radioisótopo usando las técnicas descritas en, por ejemplo, *Current Protocols in Immunology*, volúmenes 1 y 2, 1991, Coligen *et al.*, Ed. Wiley-Interscience, Nueva York, N.Y., Pubs. La radiactividad puede medirse, por ejemplo, mediante recuento por centelleo.

Los marcadores fluorescentes a modo de ejemplo incluyen marcadores derivados de quelatos de tierras raras (quelatos de europio), o están disponibles fluoresceína y sus derivados, rodamina y sus derivados, dansilo, lisamina, ficoeritrina y rojo Texas. Los marcadores fluorescentes pueden conjugarse con el anticuerpo mediante técnicas conocidas, tales como las divulgadas en *Current Protocols in Immunology*, por ejemplo. La fluorescencia puede cuantificarse usando un fluorímetro.

Hay diversos marcadores de enzima-sustrato bien caracterizados conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 4.275.149 para una revisión). Generalmente, la enzima cataliza una alteración química del sustrato cromógeno que puede medirse usando diversas técnicas. Por ejemplo, la alteración puede ser un cambio de color en un sustrato que puede medirse de manera espectrofotométrica. Alternativamente, la enzima puede alterar la fluorescencia o quimioluminiscencia del sustrato. Las técnicas para cuantificar un cambio en la fluorescencia se describen anteriormente. El sustrato quimioluminiscente se excita electrónicamente mediante una reacción química, y luego puede emitir luz que puede medirse usando un quimioluminómetro, por ejemplo, o dona energía a un aceptor fluorescente.

Los ejemplos de marcadores enzimáticos incluyen luciferasas tales como luciferasa de luciérnaga y luciferasa bacteriana (patente estadounidense n.º 4.737.456), luciferina, 2,3-dihidroftalazinadionas, malato deshidrogenasa, ureasa, peroxidasa tal como peroxidasa del rábano (HRPO), fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, glucoamilasa, lisozima, sacárido oxidasas (tales como glucosa oxidasa, galactosa oxidasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa), oxidasas heterocíclicas (tales como uricasa y xantina oxidasa), lactoperoxidasa, microperoxidasa, y similares. Las técnicas para conjugar enzimas con anticuerpos se describen, por ejemplo, en O'Sullivan *et al.*, 1981, *Methods for the Preparation of Enzyme-Antibody Conjugates for use in Enzyme Immunoassay*, en *Methods in Enzym.* (J. Langone & H. Van Vunakis, eds.), Academic press, N.Y., 73: 147-166.

Los ejemplos de combinaciones enzima-sustrato incluyen, por ejemplo: peroxidasa del rábano (HRPO) con hidrógeno peroxidasa como sustrato, en la que la hidrógeno peroxidasa oxida un precursor de colorante tal como ortofenilendiamina (OPD) o clorhidrato de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB); fosfatasa alcalina (AP) con fosfato de para-nitrofenilo como sustrato cromógeno; y β -D-galactosidasa (β -D-Gal) con un sustrato cromógeno tal como p-nitrofenil- β -D-galactosidasa o un sustrato fluorógeno tal como 4-metilumbeliferil- β -D-galactosidasa.

Hay disponibles otras numerosas combinaciones enzima-sustrato para los expertos en la técnica. Para una revisión general de las mismas, véase la patente estadounidense n.º 4.275.149 y la patente estadounidense n.º 4.318.980.

En otra realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado se usa sin marcar y se detecta con un anticuerpo marcado que se une al anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado.

Los anticuerpos descritos en el presente documento pueden emplearse en cualquier método de ensayo conocido, tal como ensayos de unión competitiva, ensayos de tipo sándwich directos e indirectos y ensayos de inmunoprecipitación. Véase, por ejemplo, Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, págs. 147-158 (CRC Press, Inc. 1987).

El anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo puede usarse para inhibir la unión de IL-23 al receptor de IL-23. Tales métodos comprenden administrar un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo a una célula (por ejemplo, una célula de mamífero) o un entorno celular, mediante lo cual se inhibe la señalización mediada por el receptor de IL-23. Estos métodos pueden realizarse *in vitro* o *in vivo*. Por "entorno celular" se entiende el tejido, el medio o la matriz extracelular que rodea a la célula. El anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra al entorno celular de una célula de tal manera que el anticuerpo o fragmento es capaz de unirse a moléculas de IL-23 fuera de y alrededor de la célula, impidiendo de ese modo la unión de IL-23 a su receptor.

Kits de diagnóstico

Un anticuerpo anti-IL-23p19 puede usarse en un kit de diagnóstico, es decir, una combinación de reactivos envasada en cantidades predeterminadas con instrucciones para realizar el ensayo diagnóstico. Cuando el anticuerpo se marca con una enzima, el kit puede incluir sustratos y cofactores requeridos por la enzima tales como un precursor de sustrato que proporciona el cromóforo o fluoróforo detectable. Además, pueden incluirse otros aditivos tales como estabilizadores, tampones (por ejemplo, un tampón de bloqueo o tampón de lisis), y similares. Las cantidades relativas de los diversos reactivos pueden variarse ampliamente para proporcionar concentraciones en disolución de los reactivos que optimicen sustancialmente la sensibilidad del ensayo. Los reactivos pueden proporcionarse como polvos secos, habitualmente liofilizados, incluyendo excipientes que, en disolución, proporcionarán una disolución de reactivos que tendrá la concentración apropiada.

Usos terapéuticos

En otros aspectos de referencia, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado divulgado en el presente documento es útil en el tratamiento de diversos trastornos asociados con la expresión de IL-23p19 tal como se describe en el presente documento. Los métodos para tratar un trastorno asociado a IL-23 comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado a un sujeto que lo necesita.

El anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o agente se administra por cualquier medio adecuado, incluyendo administración parenteral, subcutánea, intraperitoneal, intrapulmonar e intranasal, y, si se desea para un tratamiento inmunosupresor, intralesional (incluyendo perfusión o contacto de otro modo del injerto con el anticuerpo antes del trasplante). El anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o agente puede administrarse, por ejemplo, como infusión o como bolo. Las infusiones parenterales incluyen administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea. Además, el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado se administra de manera adecuada mediante infusión por pulsos, particularmente con dosis decrecientes del anticuerpo. En un aspecto, la administración de dosis se proporciona mediante inyecciones, lo más preferiblemente inyecciones intravenosas o subcutáneas, dependiendo, en parte, de si la administración es breve o crónica.

Para la prevención o el tratamiento de una enfermedad, la dosificación apropiada de anticuerpo dependerá de una variedad de factores, tales como el tipo de enfermedad que va a tratarse, tal como se definió anteriormente, la gravedad y el curso de la enfermedad, si el anticuerpo se administra con propósitos preventivos o terapéuticos, terapia previa, anamnesis del paciente y respuesta al anticuerpo, y el juicio del médico tratante. El anticuerpo se administra de manera adecuada al paciente de una vez o durante una serie de tratamientos.

Dependiendo del tipo y la gravedad de la enfermedad, de aproximadamente 1 µg/kg a 20 mg/kg (por ejemplo, 0,1-15 mg/kg) de anticuerpo es una dosificación candidata inicial para la administración al paciente, ya sea, por ejemplo, mediante o más administraciones independientes o mediante infusión continua. Una dosificación diaria típica podría oscilar desde aproximadamente 1 µg/kg hasta 100 mg/kg o más, dependiendo de los factores mencionados anteriormente. Para administraciones repetidas durante varios días o más tiempo, dependiendo del estado, el tratamiento es sostenido hasta que se produce una supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Sin embargo, pueden ser útiles otras pautas posológicas. El progreso de esta terapia se monitoriza fácilmente mediante técnicas y ensayos convencionales. Una pauta posológica a modo de ejemplo es la divulgada en el documento WO 94/04188.

El término "supresión" se usa en el presente documento en el mismo contexto que "mejora" y "alivio" en el sentido de disminución de una o más características de la enfermedad.

La composición de anticuerpo se formulará, dosificará y administrará de manera compatible con las buenas prácticas médicas. Los factores a tener en cuenta en este contexto incluyen el trastorno particular que está tratándose, el mamífero particular que está tratándose, el estado clínico del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de suministro del agente, el método de administración, el programa temporal de administración y otros factores conocidos por los profesionales médicos. La "cantidad terapéuticamente eficaz" del anticuerpo que va a administrarse se registrará por tales consideraciones, y es la cantidad mínima necesaria para prevenir, mejorar o tratar el trastorno asociado con la expresión de IL-23.

No es necesario, pero sí opcional, que el anticuerpo se formule con uno o más agentes actualmente usados para prevenir o tratar el trastorno en cuestión. La cantidad eficaz de tales otros agentes depende de la cantidad de anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado presente en la formulación, el tipo de trastorno o tratamiento y otros factores comentados anteriormente. Estos se usan generalmente en las mismas dosificaciones y con las mismas vías de administración que las usadas anteriormente, o aproximadamente desde el 1 hasta el 99% de las dosificaciones anteriormente empleadas.

Trastornos asociados a IL-23

Los anticuerpos anti-IL-23p19 o agentes son útiles para tratar o prevenir un trastorno inmunológico caracterizado por una expresión anómala de IL-23, por ejemplo, por una activación inapropiada de células inmunitarias (por ejemplo, linfocitos o células dendríticas). Tal expresión anómala de IL-23 puede deberse a, por ejemplo, un aumento en los niveles de proteína IL-23. Los anticuerpos anti-IL-23p19 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos también encuentran uso en el tratamiento o la prevención de trastornos respiratorios, trastornos metabólicos, por ejemplo, diabetes mellitus, y determinados cánceres. El tratamiento o la prevención del trastorno inmunológico, trastorno respiratorio, trastorno metabólico o cáncer, según los métodos descritos en el presente documento, se logra administrando a un sujeto que necesita tal tratamiento o prevención una cantidad eficaz del anticuerpo anti-IL-23p19 o agente, mediante lo cual el anticuerpo disminuye la actividad de IL-23 asociada con el estado patológico.

Las enfermedades inmunológicas que se caracterizan por una activación inapropiada de células inmunitarias y que pueden tratarse o prevenirse mediante los métodos descritos en el presente documento pueden clasificarse, por ejemplo, en función del/de los tipo(s) de reacción de hipersensibilidad que subyacen al trastorno. Estas reacciones se clasifican normalmente en cuatro tipos: reacciones anafilácticas, reacciones citotóxicas (citolíticas), reacciones inmunocomplejas o reacciones de inmunidad mediadas por células (IMC) (también denominadas reacciones de hipersensibilidad de tipo retardado (HTR)) (véase, por ejemplo, Fundamental Immunology (William E. Paul ed., Raven Press, N.Y., 3ª ed. 1993)). Las enfermedades inmunológicas incluyen enfermedades inflamatorias y enfermedades autoinmunitarias.

Los ejemplos específicos de enfermedades inmunológicas incluyen las siguientes: artritis reumatoide, enfermedades desmielinizantes autoinmunitarias (por ejemplo, esclerosis múltiple, encefalomiелitis alérgica), oftalmopatía endocrina, uveorretinitis, lupus eritematoso sistémico, miastenia grave, enfermedad de Graves, glomerulonefritis, trastorno hepático autoinmunitario, enfermedad inflamatoria intestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa), anafilaxis, reacción alérgica, síndrome de Sjögren, diabetes mellitus de tipo I, cirrosis biliar primaria, granulomatosis de Wegener, fibromialgia, polimiositis, dermatomiositis, miositis inflamatoria, insuficiencia endocrina múltiple, síndrome de Schmidt, uveítis autoinmunitaria, enfermedad de Addison, adrenalitis, tiroiditis, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad tiroidea autoinmunitaria, anemia perniciosa, atrofia gástrica, hepatitis crónica, hepatitis lupoide, aterosclerosis, lupus eritematoso cutáneo subagudo, hipoparatiroidismo, síndrome de Dressler, trombocitopenia autoinmunitaria, púrpura trombocitopénica idiopática, anemia hemolítica, pénfigo vulgar, pénfigo, dermatitis herpetiforme, alopecia areata, penfigoide, esclerodermia, esclerosis sistémica progresiva, síndrome de CREST (calcinosis, fenómeno de Raynaud, disfunción esofágica, esclerodactilia y telangiectasia), infertilidad autoinmunitaria masculina y femenina, espondilitis anquilosante, colitis ulcerosa, enfermedad mixta del tejido conjuntivo, poliarteritis nudosa, vasculitis necrotizante sistémica, dermatitis atópica, rinitis atópica, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Chagas, sarcoidosis, fiebre reumática, asma, aborto recurrente, síndrome antifosfolípido, neumopatía del campesino, eritema multiforme, síndrome posterior a cardiectomía, síndrome de Cushing, hepatitis activa crónica autoinmunitaria, neumopatía de los avicultores, necrólisis epidérmica tóxica, síndrome de Alport, alveolitis, alveolitis alérgica, alveolitis fibrosante, enfermedad pulmonar intersticial, eritema nudoso, pioderma gangrenoso, reacción por transfusión, arteritis de Takayasu, polimialgia reumática, arteritis temporal, esquistosomiasis, arteritis de células gigantes, ascariasis, aspergilosis, síndrome de Sampter, eccema, granulomatosis linfomatoide, enfermedad de Behcet, síndrome de Caplan, enfermedad de Kawasaki (también conocida como síndrome de Kawasaki o síndrome de los ganglios linfáticos mucocutáneos), dengue, encefalomiелitis, endocarditis, fibrosis endomiocárdica, endoftalmitis, eritema *elevatum et diutinum*, psoriasis, artritis psoriásica, eritroblastosis fetal, fascitis eosinofílica, síndrome de Shulman, síndrome de Felty, filariasis, ciclitis, ciclitis crónica, ciclitis heterocrónica, ciclitis de Fuchs, nefropatía por IgA, púrpura de Henoch-Schönlein, enfermedad de injerto contra huésped, rechazo de trasplante, miocardiopatía, síndrome de Eaton-Lambert, policondritis recidivante, crioglobulinemia, macroglobulinemia de Waldenström, síndrome de Evan, síndrome de dificultad respiratoria aguda, inflamación pulmonar, osteoporosis, hipersensibilidad de tipo retardado e insuficiencia gonadal autoinmunitaria.

En un aspecto, la enfermedad inmunológica es psoriasis. La psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel caracterizada por una hiperproliferación y diferenciación disfuncional de queratinocitos y una acumulación considerable de células T inflamatorias y células dendríticas. Por ejemplo, la enfermedad inmunológica incluye psoriasis en placas, por ejemplo, psoriasis en placas crónica, por ejemplo, psoriasis en placas crónica de moderada a grave, por ejemplo, en pacientes que son candidatos para terapia sistémica o fototerapia. Por ejemplo, la enfermedad inmunológica incluye psoriasis pustulosa palmar, psoriasis en gotas, psoriasis flexural, psoriasis pustulosa o psoriasis eritrodérmica.

En un aspecto adicional, la enfermedad inmunológica es enfermedad de Crohn. La enfermedad de Crohn (EC) es una enfermedad inflamatoria intestinal caracterizada por lesiones transmurales crónicas en la mucosa y la barrera epitelial gastrointestinal. La EC puede afectar a cualquier sitio dentro del tracto GI, lo más frecuentemente al ileon terminal. Normalmente, a la EC le sigue un periodo recidivante y remitente, y provoca morbilidad a largo plazo y aguda sustancial y mortalidad aumentada. Los pacientes a menudo desarrollan complicaciones locales (por ejemplo, fístulas, abscesos), complicaciones sistémicas (por ejemplo, uveítis, artritis) o efectos secundarios del tratamiento, y pueden requerir una cirugía mayor. Aproximadamente un tercio de los pacientes se encuentran dentro de cada una de las categorías de enfermedad leve, moderada y grave. Los pacientes con enfermedad de Crohn de moderada a grave presentan una afección debilitante con características clínicas tales como dolor abdominal, diarrea, formación de abscesos y fístulas.

En un aspecto adicional, la enfermedad inmunológica es espondiloartritis. En un aspecto adicional, la enfermedad es espondilitis anquilosante (también denominada espondiloartritis radiográfica). La espondilitis anquilosante (EA; espondiloartritis axial radiográfica) es la forma prototípica de la espondiloartritis (SpA). Es una enfermedad reumática insidiosa paralizante que es más habitual en hombres que en mujeres y afecta a individuos jóvenes; en el 80% de los pacientes, la aparición de los síntomas se produce antes de los 30 años de edad. Se caracteriza por un componente inflamatorio que contribuye a la puntuación de actividad de espondilitis anquilosante (ASAS) que se usa como medida de la mejora en los estudios de tratamiento. Además, el crecimiento óseo anómalo da como resultado la formación de espolones óseos (sindesmofitos), visibles en radiografías sencillas, acompañada por un aumento de la rigidez espinal, lo que conduce en última instancia a anquilosis ósea y deformidades vertebrales. En un aspecto adicional, la enfermedad inmunológica es espondiloartritis axial no radiográfica. Se considera que la espondiloartritis axial no radiográfica (nrSpA), una entidad recientemente más definida que la EA, representa una manifestación más temprana de los mismos procesos patológicos que la EA, aunque cada vez más se reconoce que algunos pacientes (particularmente las mujeres) pueden no avanzar a la enfermedad radiográfica y, por tanto, puede considerarse que tienen un subtipo distinto de esta enfermedad. En un aspecto adicional, la enfermedad es espondiloartritis periférica. La espondiloartritis periférica puede definirse por la presencia de artritis, entesitis o dactilitis, ya sea con al menos una característica “específica” de SpA (psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, infección anterior, HLA-B27, uveítis, sacroilitis en obtención de imágenes) o con al menos dos de las demás características de SpA (artritis, entesitis, dactilitis, dolor de espalda inflamatorio en el pasado, antecedentes familiares positivos para SpA). Esta definición se usa, por ejemplo, por la ASAS (sociedad internacional de asociación de espondiloartritis), véase también, por ejemplo, Carron P. *et al.* (Curr Opin Rheumatol 2012; 24: 370-4).

En algunas realizaciones, el trastorno inmunológico es un trastorno inmunológico mediado por células T y, por consiguiente, los anticuerpos anti-IL-23p19 y agentes tal como se describen en el presente documento también son útiles para tratar o prevenir trastornos inmunológicos mediados por células T.

En un aspecto, los anticuerpos anti-IL-23p19 o agentes son útiles para tratar o prevenir un trastorno respiratorio en el que la IL-23 se expresa de manera anómala. El tratamiento o la prevención del trastorno respiratorio, según los métodos descritos en el presente documento, se logra administrando a un sujeto que necesita tal tratamiento o prevención una cantidad eficaz del anticuerpo anti-IL-23p19 o agente, mediante lo cual el anticuerpo disminuye la actividad de IL-23 asociada con el estado patológico. Estos incluyen, pero no se limitan a: dolencias respiratorias, enfermedades pulmonares obstructivas de diversos orígenes, enfisema pulmonar de diversos orígenes, enfermedades pulmonares restrictivas, enfermedades pulmonares intersticiales, neumopatía intersticial, fibrosis quística, bronquitis de diversos orígenes, bronquiectasia, SDRA (síndrome de dificultad respiratoria en adultos) y todas las formas de edema pulmonar; enfermedades pulmonares obstructivas seleccionadas de entre EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica), asma, asma bronquial, asma pediátrica, asma grave, ataques de asma aguda y bronquitis crónica; enfisema pulmonar que tiene sus orígenes en EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica) o deficiencia en el inhibidor de proteinasa $\alpha 1$; enfermedades pulmonares restrictivas seleccionadas de entre alveolitis alérgica, enfermedades pulmonares restrictivas desencadenadas por sustancias nocivas relacionadas con el trabajo, tales como asbestosis o silicosis, y restricción provocada por tumores de pulmón, tales como linfangiosis carcinomatosa, carcinoma bronquioalveolar y linfomas; neumonía provocada por infecciones tales como, por ejemplo, infección por virus, bacterias, hongos, protozoos, helmintos u otros patógenos, neumonitis provocada por diversos factores tales como, por ejemplo, aspiración e insuficiencia ventricular izquierda, neumonitis inducida por radiación o fibrosis, colagenosis tales como, por ejemplo, lupus eritematoso, esclerodermia sistémica o sarcoidosis, granulomatosis tales como, por ejemplo, enfermedad de Boeck, neumonía intersticial idiopática o fibrosis pulmonar idiopática (FPI); mucoviscidosis, bronquitis provocadas por una infección bacteriana o vírica, bronquitis alérgica y bronquitis tóxica; bronquiectasia; edema pulmonar, por ejemplo, edema pulmonar tóxico después de aspiración o inhalación de sustancias tóxicas y sustancias extrañas; rinitis, artritis y artropatías relacionadas, psoriasis, leucemia mieloide, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, glomerulonefritis y dermatitis atópica crónica.

En otro aspecto, los anticuerpos anti-IL-23p19 y agentes tal como se describen en el presente documento también son útiles para tratar cánceres, en los que la IL-23 se expresa de manera anómala.

5 Los cánceres que expresan IL-23 que pueden tratarse mediante los métodos descritos en el presente documento incluyen, por ejemplo, leucemia, tal como leucemia aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielocítica aguda (por ejemplo, mieloblástica, promielocítica, mielomonocítica, monocítica o eritroleucemia), leucemia crónica, leucemia mielocítica (granulocítica) crónica o leucemia linfocítica crónica; policitemia verdadera; linfoma (por ejemplo, enfermedad de Hodgkin o enfermedad no Hodgkin); mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström; enfermedad de las cadenas pesadas; tumores sólidos tales como sarcomas y carcinomas (por ejemplo, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, osteosarcoma, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiomasarcoma, rhabdomyosarcoma, carcinoma de colon, carcinoma colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma epidermoide, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, adenocarcinoma quístico, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma de las vías biliares, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, cáncer de cuello uterino, cáncer de útero, tumor testicular, carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón microcítico, carcinoma de pulmón no microcítico, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, menangioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, carcinoma nasofaríngeo o carcinoma de esófago).

En otro aspecto, los anticuerpos anti-IL-23p19 y agentes tal como se describen en el presente documento también son útiles para tratar lupus discoide, malaria, melanoma maligno, anemia aplásica, enfermedad de Huntington, pustulosis palmoplantar, nefritis por IgA, vasculitis asociada a ANCA, escleritis o septicemia.

Composiciones farmacéuticas y administración de las mismas

Una composición que comprende el anticuerpo anti-IL-23p19 tal como se reivindica puede administrarse a un sujeto que padece o está en riesgo de padecer un trastorno inmunológico, un trastorno respiratorio o un cáncer. La invención contempla además el uso del anticuerpo anti-IL-23p19 en la fabricación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de un cáncer, un trastorno respiratorio o un trastorno inmunológico. El término "sujeto" tal como se usa en el presente documento significa cualquier paciente mamífero al que puede administrársele un agente de unión a IL-23p19, incluyendo, por ejemplo, humanos y mamíferos no humanos, tales como primates, roedores y perros. Los sujetos a los que se destina específicamente el tratamiento usando los métodos descritos en el presente documento incluyen humanos. Los anticuerpos pueden administrarse ya sean solos o en combinación con otras composiciones en la prevención o el tratamiento del trastorno inmunológico, trastorno respiratorio o cáncer. Tales composiciones que pueden administrarse en combinación con los anticuerpos o agentes incluyen metotrexato (MTX) e inmunomoduladores, por ejemplo, anticuerpos o moléculas pequeñas.

Se conocen diversos sistemas de suministro, y pueden usarse para administrar el agente de unión a IL-23p19. Los métodos de introducción incluyen, pero no se limitan a, las vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. El agente de unión a IL-23p19 puede administrarse, por ejemplo, mediante infusión, bolo o inyección, y puede administrarse junto con otros agentes biológicamente activos tales como agentes quimioterápicos. La administración puede ser sistémica o local. En realizaciones preferidas, la administración es mediante inyección subcutánea. Las formulaciones para tales inyecciones pueden prepararse, por ejemplo, en jeringas precargadas que pueden administrarse una vez cada dos semanas.

En realizaciones específicas, la composición de anticuerpo contra IL-23p19 se administra mediante inyección, por medio de un catéter, por medio de un supositorio, o por medio de un implante, siendo el implante de un material poroso, no poroso o gelatinoso, incluyendo una membrana, tal como una membrana sialástica o una fibra. Normalmente, cuando se administra la composición, se usan materiales a los que no se absorbe el anticuerpo anti-IL-23p19.

En otras realizaciones, la composición de anticuerpo anti-IL-23p19 se suministra en un sistema de liberación controlada. En una realización, puede usarse una bomba (véase, por ejemplo, Langer, 1990, *Science* 249:1527-1533; Sefton, 1989, *CRC Crit. Rev. Biomed. Eng.* 14:201; Buchwald *et al.*, 1980, *Surgery* 88:507; Saudek *et al.*, 1989, *N. Engl. J. Med.* 321:574). En otra realización, pueden usarse materiales poliméricos (véase, por ejemplo, *Medical Applications of Controlled Release* (Langer and Wise eds., CRC Press, Boca Raton, Fla., 1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance* (Smolen and Ball eds., Wiley, Nueva York, 1984); Ranger y Peppas, 1983, *Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61. Véase también Levy *et al.*, 1985, *Science* 228:190; During *et al.*, 1989, *Ann. Neurol.* 25:351; Howard *et al.*, 1989, *J. Neurosurg.* 71:105). Otros sistemas de liberación controlada se comentan, por ejemplo, en Langer, citado anteriormente.

Un anticuerpo anti-IL-23p19 puede administrarse como composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz del agente de unión y uno o más componentes farmacéuticamente compatibles.

En realizaciones típicas, la composición farmacéutica se formula según procedimientos de rutina como una composición farmacéutica adaptada para administración intravenosa o subcutánea a seres humanos. Normalmente, las composiciones para administración mediante inyección son disoluciones en tampón acuoso isotónico estéril. Cuando sea necesario, el producto farmacéutico también puede incluir un agente solubilizante y un anestésico local tal como lidocaína para aliviar el dolor en el sitio de la inyección. Generalmente, los componentes se suministran o bien independientemente o bien mezclados entre sí en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como polvo liofilizado seco o concentrado libre de agua en un recipiente herméticamente sellado tal como una ampolla o un sobre que indica la cantidad de agente activo. Cuando el producto farmacéutico va a administrarse mediante infusión, puede dispensarse con un frasco de infusión que contiene solución salina o agua de calidad farmacéutica estéril. Cuando el producto farmacéutico se administra mediante inyección, puede proporcionarse una ampolla de solución salina o agua para inyección estéril de modo que puedan mezclarse los componentes antes de la administración.

Además, la composición farmacéutica puede proporcionarse como un kit farmacéutico que comprende (a) un recipiente que contiene un anticuerpo anti-IL-23p19 en forma liofilizada y (b) un segundo recipiente que contiene un diluyente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua estéril) para inyección. El diluyente farmacéuticamente aceptable puede usarse para la reconstitución o dilución del anticuerpo anti-IL-23p19 o agente liofilizado. Opcionalmente asociado(s) con tal(es) recipiente(s) puede haber una indicación en forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, el uso o la comercialización de productos farmacéuticos o productos biológicos, indicación que refleja la aprobación por parte de la agencia de fabricación, uso o comercialización para su administración en humanos.

La cantidad del agente de unión a IL-23p19 (anticuerpo anti-IL-23p19) que es eficaz en el tratamiento o la prevención de un trastorno inmunológico o cáncer puede determinarse mediante técnicas clínicas convencionales. Además, opcionalmente puede emplearse ensayos *in vitro* para ayudar a identificar intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa que va a emplearse en la formulación también dependerá de la vía de administración y del estadio del trastorno inmunológico o cáncer, y debe decidirse según el criterio del médico y las circunstancias de cada paciente. Pueden extrapolarse dosis eficaces a partir de las curvas dosis-respuesta derivadas de sistemas de prueba de modelos *in vitro* o animales.

Generalmente, la dosificación de un anticuerpo anti-IL-23p19 administrado a un paciente con un trastorno inmunológico o cáncer que expresa IL-23p19 es normalmente de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg del peso corporal del sujeto. La dosificación administrada a un sujeto es de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 15 mg/kg o de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg del peso corporal del sujeto.

Las dosis a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, desde 1 ng/kg hasta 100 mg/kg. En algunas realizaciones, una dosis es de aproximadamente 0,5 mg/kg, aproximadamente 1 mg/kg, aproximadamente 2 mg/kg, aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 4 mg/kg, aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 6 mg/kg, aproximadamente 7 mg/kg, aproximadamente 8 mg/kg, aproximadamente 9 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 11 mg/kg, aproximadamente 12 mg/kg, aproximadamente 13 mg/kg, aproximadamente 14 mg/kg, aproximadamente 15 mg/kg o aproximadamente 16 mg/kg. La dosis puede administrarse, por ejemplo, diariamente, una vez a la semana (semanalmente), dos veces a la semana, tres veces a la semana, cuatro veces a la semana, cinco veces a la semana, seis veces a la semana, bisemanalmente o mensualmente, cada dos meses, o cada tres meses. En realizaciones específicas, la dosis es de aproximadamente 0,5 mg/kg/semana, aproximadamente 1 mg/kg/semana, aproximadamente 2 mg/kg/semana, aproximadamente 3 mg/kg/semana, aproximadamente 4 mg/kg/semana, aproximadamente 5 mg/kg/semana, aproximadamente 6 mg/kg/semana, aproximadamente 7 mg/kg/semana, aproximadamente 8 mg/kg/semana, aproximadamente 9 mg/kg/semana, aproximadamente 10 mg/kg/semana, aproximadamente 11 mg/kg/semana, aproximadamente 12 mg/kg/semana, aproximadamente 13 mg/kg/semana, aproximadamente 14 mg/kg/semana, aproximadamente 15 mg/kg/semana o aproximadamente 16 mg/kg/semana. En algunas realizaciones, la dosis oscila desde aproximadamente 1 mg/kg/semana hasta aproximadamente 15 mg/kg/semana.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas que comprenden el agente de unión a IL-23p19 pueden comprender además un agente terapéutico, ya sea conjugado o no conjugado con el agente de unión. El anticuerpo anti-IL-23p19 puede coadministrarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento o la prevención de trastornos inmunológicos o cánceres.

Tal administración de terapia de combinación puede tener un efecto aditivo o sinérgico sobre los parámetros de enfermedad (por ejemplo, la gravedad de un síntoma, el número de síntomas o la frecuencia de recidiva).

Con respecto a los regímenes terapéuticos para la administración combinatoria, en una realización específica, un anticuerpo anti-IL-23p19 se administra simultáneamente con un agente terapéutico. En otra realización específica, el agente terapéutico se administra antes o después de la administración del anticuerpo anti-IL-23p19, en al menos una hora y hasta varios meses, por ejemplo, al menos una hora, cinco horas, 12 horas, un día, una semana, un mes o tres

meses, antes o después de la administración del anticuerpo anti-IL-23p19 o agente de unión a IL-23p19.

Por ejemplo, una composición farmacéutica de la presente invención comprende una molécula de anticuerpo, concretamente la molécula de anticuerpo tal como se reivindica, y comprende además 90 mg/ml de dicho anticuerpo y polisorbato 20 0,16 mmol/l, en la que dicha composición farmacéutica comprende además (i) sorbitol 240 mmol/l o (ii) ácido succínico 0,5 mmol/l, succinato de disodio hexahidratado 3,9 mmol/l y sorbitol 225 mmol/l, en la que el pH de dicha composición farmacéutica está en el intervalo de pH 5,5 a 6,5.

Las composiciones farmacéuticas según la presente invención se describen con más detalle a continuación en el presente documento. En un aspecto, las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento son fisicoquímicamente estables y mantienen la integridad de un anticuerpo comprendido en dicha composición farmacéutica, por ejemplo, cuando se almacenan durante 8 semanas a 40°C tal como se muestra a continuación en el presente documento.

Artículos de fabricación

En otro aspecto, se incluye un artículo de fabricación que contiene materiales útiles para el tratamiento de los trastornos descritos anteriormente. El artículo de fabricación comprende un recipiente y una etiqueta. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringas y tubos de ensayo. Los recipientes pueden formarse a partir de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico. El recipiente alberga una composición que es eficaz para tratar el estado y puede tener un orificio de acceso estéril. Por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de disolución intravenosa o un vial que tiene un tapón que puede perforarse mediante una aguja de inyección hipodérmica. El agente activo en la composición es el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado. La etiqueta sobre o asociada con el recipiente indica que la composición se usa para tratar el estado de elección. El artículo de fabricación puede comprender además un segundo recipiente que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y disolución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde el punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas, jeringas y prospectos con instrucciones para su uso.

La invención se describe adicionalmente en los siguientes ejemplos, que no se pretende que limiten el alcance de la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1: Producción de anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados

El anticuerpo de ratón de partida 6B8 se convirtió en un anticuerpo quimérico que consistía en el dominio variable de ratón de 6B8 y un dominio IgG1KO constante humano. El anticuerpo de ratón 6B8 se muestra en las tablas 1 y 2 anteriormente en el presente documento. IgG1KO (inactivada) tiene mutaciones de reemplazo (Leu234Ala y Leu235Ala) que eliminan la actividad de CCDA y CDC reduciendo funciones efectoras tales como la unión a FcγR y al complemento. Los dominios variables de los anticuerpos de ratón y quiméricos son idénticos. Los anticuerpos quiméricos se generan para confirmar la función del anticuerpo y para garantizar que se ha obtenido la secuencia correcta. Luego se humaniza la región variable del anticuerpo a través de un procedimiento de diseño y selección. Se preparó una biblioteca en la que se variaron los residuos humanos y de ratón de tal manera que, en cualquier posición dada, podría haber o bien un residuo humano o bien uno de ratón. Se preparó una biblioteca de este tipo para aquellos aminoácidos que eran diferentes entre el anticuerpo de la línea germinal humana y el de ratón. Sólo se seleccionaron los clones que conservan la función del anticuerpo de ratón parental. En las tablas 5 y 6 se muestran regiones variables humanizadas representativas para el anticuerpo 6B8.

De esta manera, el anticuerpo A, anticuerpo B, anticuerpo C y anticuerpo D eran anticuerpos humanizados derivados del anticuerpo de ratón 6B8 (clonados en una estructura principal de IgG1-KO humana (KO=inactivada)/kappa. En la tabla 7 se muestran los anticuerpos A, B, C y D.

Ejemplo 2: Unión de anticuerpos a proteína IL-23 recombinante

A) A continuación se muestran la cinética y la afinidad de unión de anticuerpos anti-IL-23p19 de ratón a IL-23 humana recombinante (tabla 9). La cinética y las afinidades de unión se midieron usando Fortebio Octet (Fortebio, Menlo Park, CA) usando un material generado a partir de hibridoma tras la purificación en una sola columna. Puesto que Octet no es una tecnología basada en fluidica, este método no proporciona una determinación precisa de la disociación. En algunos casos, sólo puede obtenerse una estimación de la afinidad.

Tabla 9

Anticuerpo	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)
18C4	3,84E+05	2,14E-06	5,57

18E 5	3,29E+05	2,61E-06	7,93
18D3	3,19E+05	2,16E-06	6,78
20 E8	4,21 E+05	2,69E-04	638
22 E2	3,46E+05	3,53E-04	1024
24A5	2,02E+05	4,57E-06	22,6
15C11	4,11 E+05	1,07E-05	26
43F5	1,72E+05	5,96E-06	34,6
27G8	1,57E+05	4,26E-06	27,2
31H9	2,99E+05	3,45E-06	11,5
2D1		< 1e-6	< 1
9D12		< 1e-6	< 1
6B8		< 1e-6	< 1
73H10	5,29E+04	5,24E-06	99,2
74H3	3,06E+04	2,09E-06	68,3
35H8			
26F7	4,76E+05	1,34E-05	28,1
34G3	9,18E+05	3,10E-05	32,8
34D9	3,44E+03	1,87E-06	544

B) Las afinidades se midieron para anticuerpos humanizados derivados del anticuerpo de ratón 6B8. Los datos cinéticos de unión, medidos usando ProteON XPR36 (Biorad, Hercules, CA) y ajustados de manera global a un modelo de unión 1:1, demostraron las interacciones con IL-23 recombinante, ya sea con o sin un ligador de 21 aminoácidos que se une de manera covalente a las subunidades p19 y p40 para que sean de alta afinidad, en el intervalo de 1 pM ~ 100 pM (tabla 10). También se sometieron a prueba el anticuerpo 6H12 (divulgado en el documento WO 2007/027714), el anticuerpo QF20 (divulgado en el documento WO 2007/024846) y el anticuerpo C1273 (divulgado en el documento WO 2007/005955).

Tabla 10

Anticuerpo	IL-23 humana con ligador			IL-23 humana sin ligador		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)
Ratón 6B8				5,57E+05	1,38E-05	24,5
Anticuerpo A	6,27E+05	< 1e-6	< 1	5,51 E+05	< 1e-6	< 1
Anticuerpo B	3,56E+05	< 1e-6	< 1	5,17E+05	< 1e-6	< 1
Anticuerpo C	3,74E+05	1,19E-05	31,8	4,54E+05	1,65E-05	36,3
Anticuerpo D	3,82E+05	4,07E-05	107	3,66E+05	4,93E-05	135
C-1273				3,60E+05	5,75E-06	15,8
6H12				4,99E+05	1,07E-04	214
QF20				2,03E+05	5,89E-06	2,91

C) La afinidad y los datos cinéticos para los anticuerpos anti-IL-23p19 que se unen a IL-23 de macaco cangrejero se midieron con ProteON XPR36 y se ajustaron de manera global a un modelo de unión 1:1 (tabla 11). También se sometieron a prueba el anticuerpo 6H12 (divulgado en el documento WO 2007/027714), el anticuerpo QF20 (divulgado en el documento WO 2007/024846) y el anticuerpo C1273 (divulgado en el documento WO 2007/005955).

Tabla 11

Anticuerpo	K_D (pM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)
Anticuerpo A	< 1	2,95E+06	< 1e-6
Anticuerpo B	< 1	2,99E+06	< 1e-6
Anticuerpo C	2,9	3,23E+06	9,36E-06

Anticuerpo D	15,9	2,07E+06	3,29E-05
C-1273	>5.000	n/a	n/a
6H12	157	9,91 E+05	1,56E-04
QF20	1,2	3,90E+06	4,78E-06

D) Selectividad molecular con respecto a IL-12 humana

Los anticuerpos anti-IL-23p19 también se inyectaron sobre una superficie de IL-12 humana a una concentración de 100 nM. La señal de unión para estos anticuerpos medida usando Fortebio Octet es cero, lo que indica que estos anticuerpos se unen selectivamente a IL-23 humana. La unión de los anticuerpos anti-IL-23p19 a IL-23 también se analizó en presencia de suero humano al 50% y no se observó ningún efecto significativo del suero sobre la asociación de unión, lo que demuestra una alta especificidad.

Ejemplo 3: Ensayo de unión por competición de la unión de IL-23 humana a IL-23R/Fc humano

Se capturó IL-23R-Fc humano sobre la superficie de biosensor y se inyectó 10 nM de IL-23 humana. El sensograma indica la unión específica entre IL-23 y el receptor de IL-23 (figura 2, línea superior). Luego se inyectaron conjuntamente los anticuerpos con 10 nM de IL-23 humana para evaluar si la unión del anticuerpo a IL-23 podía inhibir la interacción entre IL-23 y el receptor de IL-23. En este ejemplo, si el anticuerpo se une a IL-23 humana y es capaz de inhibir la interacción, entonces se observará una unión reducida o nula (figura 2, línea inferior). En el ejemplo mostrado, se inyectó conjuntamente una concentración molar equivalente de anticuerpo A con 10 nM de IL-23 humana recombinantes.

Ejemplo 4: Ensayos celulares funcionales, inhibición de la producción de IL-17 a partir de esplenocitos de ratón estimulados con IL-23

Un ensayo celular funcional para los anticuerpos anti-IL-23p19 mide su capacidad para inhibir la producción de IL-17 estimulada por IL-23 a partir de células mononucleares aisladas de bazo de ratón. La proteína IL-23 humana recombinante es capaz de estimular la liberación de IL-17 a partir de esplenocitos de ratón. Además, puede usarse una fuente natural de IL-23 humana hallada en el sobrenadante de células THP-1 monocíticas humanas activadas para estimular la producción de IL-17 a partir de células mononucleares de ratón.

Se incubó previamente IL-23 humana recombinante o IL-23 humana natural a partir de células THP-1 activadas con anticuerpos anti-IL-23p19 titulados. Luego se añadieron las combinaciones IL-23/anticuerpo a esplenocitos murinos recién aislados. Se usó IL-23 recombinante sola como control positivo. Después de dos días en cultivo, se recogieron los sobrenadantes celulares y se sometieron a ensayo para determinar IL-17 mediante ELISA (R&D Systems, Mineápolis, MN). A continuación se muestran valores de CI_{50} representativos para los anticuerpos anti-IL-23p19. Los anticuerpos sometidos a prueba son anticuerpos de ratón derivados de hibridomas (filas 1-19, véanse las tablas 1 y 2), anticuerpos quiméricos (filas 20-23) y los anticuerpos A a D. También se sometieron a prueba el anticuerpo 6H12 (divulgado en el documento WO 2007/027714), el anticuerpo QF20 (divulgado en el documento WO 2007/024846) y el anticuerpo C1273 (divulgado en el documento WO 2007/005955).

Tabla 12

Anticuerpo	Valores de CI_{50} (pM), IL-23 humana recombinante	Valores de CI_{50} (pM), IL-23 humana natural
18C4	471	100, 413
18E5	no determinado	9, 9, 13
18D3	234	no determinado
20E8	no determinado	438, 561
22E2	61, 130	117,35
24A5	22, 37	85, 31
15C11	126	232
43F5	250, 8000	8000
27G8	235	5000
31H9	960	2000
2D1	no determinado	2336, 1911, 1597
9D12	59	281, 138

6B8	13	8, 2
73H10	1411	no determinado
74H3	1352	no determinado
36H8	no determinado	no determinado
26F7	27	2, 8
34G3	336	27, 25
34D9	510	456
18E5 quimérico	31	8, 36, 10, 9
22E2 quimérico	100	9, 178
24A5 quimérico	404	95, 102
6B8 quimérico	26, 37, 57	5, 2, 6, 3
Anticuerpo A	5, 5, 5, 15	1, 1
Anticuerpo B	13, 30, 54, 42	9, 8
Anticuerpo C	53, 71, 162, 89	16, 32
Anticuerpo D	236, 225, 614, 458	133, 125
6H12	1600, 806, 1300	957, 4400, 1013, 439
QF20	no determinado	7, 12
C1273	no determinado	93, 44

Ejemplo 5: Pruebas de especificidad funcional contra IL-12 en un ensayo de células T activadas humanas

5 Los anticuerpos anti-IL-23p19 se sometieron a prueba para determinar la inhibición funcional de IL-12 en un ensayo de células T activadas humanas. Se incubó previamente IL-12 humana recombinante (1 ng/ml) con 5 µg/ml de anticuerpos anti-IL-23p19. Luego se añadieron las combinaciones IL-12/anticuerpo a blastos de células T derivadas de PHA humanas. Se usó IL-12 recombinante sola como control positivo. Se usó un anticuerpo anti-IL-12p70 (Bender MedSystems, Viena, Austria) como anticuerpo inhibidor de control. Después de dos días en cultivo, se recogieron los sobrenadantes celulares y se sometieron a ensayo para determinar IFN- γ mediante ELISA (R&D Systems). Las

10 muestras se sometieron a prueba por triplicado y se determinó el promedio de pg/ml de IFN- γ . En la tabla a continuación se muestran los resultados (con desviaciones estándar).

Tabla 13

Anticuerpo	Estimulación con citocinas	Promedio de pg/ml de IFN- γ +/- desviación estándar
Sin anticuerpo	Ninguna	87 +/- 7
Sin anticuerpo	1 ng/ml de IL-12	532 +/- 51
18E5 quimérico	1 ng/ml de IL-12	511 +/- 3
6B8 quimérico	1 ng/ml de IL-12	523 +/- 60
Anticuerpo A	1 ng/ml de IL-12	497 +/- 30
Anticuerpo B	1 ng/ml de IL-12	537 +/- 2
Anticuerpo C	1 ng/ml de IL-12	495 +/- 25
Anticuerpo D	1 ng/ml de IL-12	539 +/- 38
Anticuerpo anti-IL-12p70	1 ng/ml de IL-12	119 +/- 12

Ejemplo 6: Inhibición de la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 en la línea celular humana DB

15 La línea celular humana DB (ATCC, Manassas, VA) responde a la estimulación con IL-23 a través de un complejo de IL-23R endógeno (IL-23R e IL-12R β 1) y fosforila STAT3 de manera dependiente de la dosis de IL-23. Se desarrolló

20 un ensayo para someter a prueba la inhibición, por parte del anticuerpo anti-IL-23p19, de la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23. Se sembraron células DB a 1x10⁶ células/pocillo en una placa de 96 pocillos. Los anticuerpos que iban a someterse a prueba se diluyeron en serie y se incubaron previamente con IL-23 humana recombinante (10 ng/ml) durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego se añadió la mezcla anticuerpo/IL-23 a las células durante 30 minutos a 37°C. Se recogieron las células mediante centrifugación a 4°C durante 10 minutos y luego se lisaron en

tampón helado (Cell Signaling Technology, Beverly, MA). Se ejecutó una porción del lisado en un ELISA de fosfo-STAT3 (Invitrogen). Se calcularon los valores de CI_{50} de los anticuerpos como porcentaje de inhibición de la fosforilación de STAT3 en comparación con los pocillos de control sin anticuerpo. En la tabla a continuación se muestran valores de CI_{50} representativos.

Tabla 14

Anticuerpo	CI_{50} (pM)
Anticuerpo A	25, 15, 38, 23, 13, 18
Anticuerpo B	73, 84
Anticuerpo C	132, 80
Anticuerpo D	158
QF20	26, 26, 27
C-1273	163, 438

Ejemplo 7: Modelo *in vivo* de producción de citocinas inducida por IL-23 en la oreja de ratón

Se usó un modelo *in vivo* en el ratón. Se inyecta IL-23 humana recombinante en la piel de la oreja de ratón durante 4 días consecutivos, lo que da como resultado un engrosamiento epidérmico y una regulación por incremento de proteína IL-17 e IL-22. Se evaluaron los anticuerpos anti-IL-23p19 en este modelo. Se administró una única inyección intraperitoneal de 1 mg/kg o 5 mg/kg de anticuerpo 1 hora antes de la inyección inicial de IL-23 en la piel. Se inyectó IL-23 humana recombinante (con ligador) una vez al día durante 3 días adicionales y se recogió tejido para la evaluación de citocinas. Se demostró la inhibición de la producción de citocinas para los anticuerpos. En la tabla a continuación se muestran los resultados de tres experimentos (exp. 1: filas 1-7, exp. 2: filas 8-10, exp. 3: filas 11-14).

Tabla 15

	pg/ml de IL-17 en tejido de oreja, media +/- EEM	Porcentaje de inhibición de IL-17 en tejido de oreja	pg/ml de IL-22 en tejido de oreja, media +/- EEM	Porcentaje de inhibición de IL-22 en tejido de oreja
BSA al 0,1% + tampón citrato i.p. (control no estimulado)	3 +/- 1	NA	1 +/- 0	NA
0,3 ug de IL-23 + tampón citrato i.p. (control de vehículo)	25 +/- 3	NA	274 +/- 30	NA
0,3 ug de IL-23 + 1 mg/kg de anticuerpo 6B8	7 +/- 2	81	57 +/- 19	80
0,3 ug de IL-23 + 1 mg/kg de anticuerpo A	2 +/- 1	101	17 +/- 3	94
0,3 ug de IL-23 + 1 mg/kg de anticuerpo B	5 +/- 1	93	30 +/- 2	89
0,3 ug de IL-23 + 1 mg/kg de anticuerpo C	11 +/- 1	66	108 +/- 12	61
0,3 ug de IL-23 + 1 mg/kg de anticuerpo D	10 +/- 1	67	151 +/- 12	45
BSA al 0,1% + vehículo (control no estimulado)	14 +/- 1	NA	1 +/- 1	NA
0,3 ug de IL-23 + vehículo	31 +/- 4	NA	129 +/- 29	NA
0,3 ug de IL-23 + 5 mg/kg de 24A5	14 +/- 1	102	10 +/- 5	93
BSA al 0,1% + mlgG (control no estimulado)	17 +/- 1	NA	4 +/- 1	NA
0,3 ug de IL-23 + mlgG (control de vehículo)	30 +/- 2	NA	208 +/- 40	NA
0,3 ug de IL-23 + 5 mg/kg de 24A5	16 +/- 0	109	28 +/- 5	88
0,3 ug de IL-23 + 5 mg/kg de 18E5	21 +/- 2	70	53 +/- 41	80

Ejemplo 8: Estudios farmacocinéticos en macaco cangrejero

Los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados se administraron mediante infusión intravenosa de diez minutos a una dosis de 1,0 mg/kg a tres macacos cangrejeros. Se recogieron muestras de suero a lo largo de un transcurso de tiempo de 6 semanas y se midieron las concentraciones de anticuerpo libre usando un ELISA específico. En la tabla 16 a continuación se resumen los perfiles de concentración sérica-tiempo para los anticuerpos y los parámetros farmacocinéticos correspondientes.

Tabla 16

Anticuerpo	CL (ml/d/kg)	Vol (ml/kg)	AUC (nM·h/ml)	T _{1/2} (días)	MRT (días)
Anticuerpo A	5,2	88	32262	12,1	17,2
Anticuerpo B	6,0	87	27030	10,1	14,8
Anticuerpo C	4,7	91	34642	14,1	19,6
Anticuerpo D	3,4	67	47633	12,6	19,8

Ejemplo 9: Expresión en células NS0 y datos biofísicos

Transfección de células NS0 y generación de agrupaciones estables:

Se hicieron crecer células NS0 en presencia de FBS al 1% antes de la transfección. Se recogieron 40x10⁶ células y se resuspendieron en 0,8 ml en medios que contenían FBS al 2% con 20 ug de ADN linealizado (vectores de expresión de cadena pesada y cadena ligera), y luego se incubaron las células en hielo durante aproximadamente 15 min antes de la electroporación de las células a 750 V/25 uF (Bio-Rad Gene Pulser Xcell). Se recuperaron las células con FBS al 2% durante aproximadamente 48 horas a 37°C y el 5% de CO₂ y luego se sembraron en placas de 96 pocillos a 2x10⁵ células/ml que contenían G418 y ácido micofenólico durante 14-21 días hasta la formación de colonias.

Se analizó el sobrenadante de las placas de 96 pocillos con colonias mediante ELISA. Se recubrieron las placas de ELISA con 1 ug/ml de anticuerpo de cabra anti-kappa (Southern Biotech, Birmingham, AL) en PBS y se incubó el sobrenadante diluido y luego se detectó con anticuerpo de cabra anti-IgG humana Fc-HRP (de Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA). Se agruparon las colonias positivas para el aumento de escala. Se determinaron los títulos para la producción de anticuerpos mediante ForteBio usando puntas de proteína A según el protocolo de fabricación. Los títulos para el anticuerpo A y el anticuerpo D estaban entre 250-350 mg/l, con más del 80% de recuperación a partir de la purificación de proteínas, y más del 94% de monómero después de la purificación por IEX. Se resuspendieron las proteínas en un tampón final que contenía citrato de sodio 20 mM y NaCl 115mM, pH 6,0, y eran estables a 4°C durante al menos 4 meses y con una solubilidad de hasta 100 mg/ml en este tampón.

Tabla 17

	Columna de proteína A			Columna de IEX	
	Título (mg/l)	Rendimiento (mg/l)	Recuperación	Rendimiento (mg/l)	Recuperación
Anticuerpo A	345	275	80%	221	80%
Anticuerpo D	248	225	90%	175	78%

Tabla 18

	Calidad		Estabilidad				Solubilidad
	AUC recién preparado (%M)	SEC recién preparado (%M)	AUC 1 mes (%M)	SEC 1 mes (%M)	AUC 4 meses (%M)	SEC 4 meses (%M)	AUC a 100 mg/ml (%M)
Anticuerpo A	98	99	97	99	96	99	99
Anticuerpo D	94	100	98	100	99	99	97

AUC: ultracentrifugación analítica tal como se mide mediante el método de velocidad de sedimentación a concentraciones de 0,5-1 mg/ml; SEC: cromatografía de exclusión molecular; %M: porcentaje de monómero.

Ejemplo 10: Mapeo de epítomos

Se empleó espectrometría de masas con intercambio de hidrógeno/deuterio (HXMS) para mapear el epítomo de

anticuerpo A que se une a IL-23p19 humana. Este método determinó la susceptibilidad de los hidrógenos de la estructura principal de amida de IL-23p19 al intercambio con D₂O. El experimento se llevó a cabo con IL-23 sola e IL-23 con anticuerpo A añadido. Por tanto, se identificaron las regiones de la secuencia de IL-23p19 que muestran una protección significativa frente al intercambio debido a la unión del anticuerpo A. La resolución del método se determina mediante los péptidos producidos por digestión con pepsina o proteasa XVIII. Estos péptidos derivados de IL-23p19 se identificaron mediante experimentos de control adicionales con muestras que no han experimentado intercambio empleando tecnologías convencionales de HPLC EM/EM y de masas precisas.

Se usó IL-23 humana recombinante. Para la muestra proteína + anticuerpo, se incubaron 50 µl de IL-23 (0,8 mg/ml) con 10 µl de anticuerpo A (12,7 mg/ml) durante 15 minutos a temperatura ambiente. La razón molar anticuerpo A/IL-23 final fue de 1,2:1.

Para el intercambio, se añadieron 5 µl de proteína IL-23 a 50 µl de tampón deuterado (PBS 50 mM en D₂O) y se incubó durante 100 segundos a temperatura ambiente. Se añadieron 50 µl de urea 2 M/TCEP 0,5 M y se incubó durante 60 segundos a temperatura ambiente. Se añadieron 5 µl de pepsina o proteasa XVIII (4 mg/ml en ácido fórmico al 0,1%) y se enfrió inmediatamente la muestra hasta 4°C.

Después de 5 minutos, se inyectaron 50 µl de muestra en un sistema de HPLC de Shimadzu (controlador SCL10A y dos bombas LC10AD) en las siguientes condiciones:

Fase móvil A = 99/1/0,1 (agua/acetonitrilo/ácido fórmico).

Fase móvil B = 95/5/0,1 (acetonitrilo/agua/ácido fórmico).

Velocidad de flujo = 100 µl/min.

Columna = Fenomenex Jupiter C5, 5 µ, 50x1,0 mm.

Las líneas de fase móvil, la columna y el bucle de inyector se encuentran en baños de hielo.

Gradiente = tiempo 0 (3% de B), tiempo 2,2 (3% de B), tiempo 10,1 (90% de B), tiempo 12,0 (90% de B), tiempo 12,1 (3% de B).

La espectrometría de masas se llevó a cabo de la siguiente manera:

Espectrómetro de masas = Thermo Orbitrap Velos (0900865).

Métodos:

A. Fragmentación (para dar péptidos ID): tiempo de adquisición de 12 minutos (retardo de inicio de 3 minutos), FTEM de barrido completo a una resolución de 30.000, siete barridos dependientes de datos de trampa de iones (CID).

B. Ejecuciones de EM: tiempo de adquisición de 12 minutos (retardo de inicio de 3 minutos), FTEM de barrido completo a una resolución de 60.000.

Se identificaron los péptidos pepsina y proteasa XVIII usando datos de fragmentación y el programa Proteome Discoverer (Thermoscientific, Waltham, MA). Los péptidos identificados se compararon visualmente (proteína sola frente a proteína con anticuerpo presente) usando el software Xcalibur (Thermoscientific). No se observaron desplazamientos significativos en el intercambio para IL-23 sola frente a IL-23 con anticuerpo A fuera de la región de IL-23p19. Para la porción p19 de la proteína, los datos se analizaron usando el programa PepMap (Thermoscientific). Este programa calcula la masa promedio para los péptidos que han experimentado intercambio. Se comprobaron los resultados de PepMap y se calcularon aquellos péptidos que no proporcionaron resultados verificados con la ayuda de Microsoft Excel.

Las regiones de la secuencia de IL-23 que mostraron una protección significativa frente al intercambio debido a la unión del anticuerpo A se identificaron como los residuos de aminoácido 108 a 126 de SEQ ID NO:181 y los residuos de aminoácido 137 a 151 de SEQ ID NO:181.

Ejemplo 11: Composiciones farmacéuticas

A continuación se muestran ejemplos de formulaciones adecuadas para un anticuerpo de la presente invención. Los anticuerpos usados en las formulaciones a continuación son, por ejemplo, el anticuerpo A, el anticuerpo B, el anticuerpo C o el anticuerpo D.

Formulación 1:

Componentes	Concentración [mmol/l]	Concentración [g/l]	Cantidad nominal [mg/vial] V = 10,0 ml
Anticuerpo		10,0	100,0
Ácido succínico	0,7	0,083	0,8
Succinato de disodio hexahidratado	24,3	6,564	65,6
Cloruro de sodio	125	7,305	73,1
Polisorbato 20	0,16	0,20	0,20
Agua para inyección	-	hasta 1 l	hasta 1 ml

El pH de la formulación 1 está normalmente en el intervalo de pH 6,0 a 7,0, por ejemplo, pH 6,5. Esta formulación es particularmente adecuada para administración intravenosa.

5 Peso molecular (PM en g/mol) de excipientes usados: succinato de disodio hexahidratado = 270,14 g/mol; ácido succínico = 118,09 g/mol; cloruro de sodio = 58,44 g/mol.

10 La osmolaridad de la formulación es de 300 +/- 30 mOsmol/kg, tal como se determina usando Osmomat 030 (Gonotec GmbH, Berlín, Alemania). La densidad a 20°C de la formulación es de aproximadamente 1,0089 g/cm³, tal como se determina usando una unidad de medición DMA 4500 (Anton Paar GmbH, Ostfildern-Scharnhausen, Alemania).

Formulación 2:

Componentes	Concentración [mmol/l]	Concentración [g/l]	Cantidad nominal [mg/jeringa] V = 1,0 ml
Anticuerpo	0,6	90,0	90,0
Ácido succínico	0,5	0,059	0,059
Succinato de disodio hexahidratado	3,9	1,054	1,054
Sorbitol	225	41,00	41,00
Polisorbato 20	0,16	0,20	0,20
Agua para inyección	-	hasta 1 l	hasta 1 ml

15 El pH de la formulación 2 está normalmente en el intervalo de pH 5,5 a 6,5, por ejemplo, de 5,5 a 6,1, por ejemplo, el pH es de 5,8. Esta formulación es particularmente adecuada para administración subcutánea.

20 Peso molecular (PM en g/mol) de excipientes usados:

PM: ácido succínico (C₄H₆O₄) = 118,09 g/mol

PM: succinato de disodio hexahidratado (C₄O₄Na₂H₄ x 6H₂O) = 270,14 g/mol

25 PM: sorbitol = 182,17 g/mol

PM: polisorbato 20 = 1227,72 g/mol

30 La osmolaridad de la formulación es de 300 +/- 30 mOsmol/kg, tal como se determina usando Osmomat 030 (Gonotec GmbH, Berlín, Alemania). La densidad a 20°C de la formulación es de aproximadamente 1,040 g/cm³, tal como se determina usando una unidad de medición DMA 4500 (Anton Paar GmbH, Ostfildern-Scharnhausen, Alemania).

Formulación 3:

Componentes	Concentración [mmol/l]	Concentración [g/l]	Cantidad nominal [mg/jeringa] V = 1,0 ml
Anticuerpo	0,6	90,0	90,0
Sorbitol	240	43,733	43,733

Polisorbato 20	0,16	0,20	0,20
Agua para inyección	-	hasta 1 l	hasta 1 ml

El pH de la formulación 3 está normalmente en el intervalo de pH 5,5 a 6,5, por ejemplo, de 5,5 a 6,1, por ejemplo, el pH es de 5,8. Esta formulación es particularmente adecuada para administración subcutánea.

5 Peso molecular (PM en g/mol) de excipientes usados:

PM: sorbitol = 182,17 g/mol

PM: polisorbato 20 = 1227,72 g/mol.

10 La osmolaridad de la formulación es de 300 +/- 30 mOsmol/kg, tal como se determina usando Osmomat 030 (Gonotec GmbH, Berlín, Alemania).

Ejemplo 12: Estabilidad de las composiciones farmacéuticas

15 Las composiciones farmacéuticas se almacenan a 40°C durante 8 semanas en una jeringa en el caso de las formulaciones 2 y 3. Las propiedades de las formulaciones se miden inicialmente y después de 8 semanas en almacenamiento a 40°C, y se muestran a continuación.

20 La turbidez se expresa en unidades nefelométricas de formazina (UNF), tal como se mide usando nefelometría. El % de monómero se determina mediante cromatografía de exclusión molecular de alta resolución (HP-SEC).

Estabilidad en almacenamiento de las formulaciones 2 y 3

	Formulación 2 (inicial/después de 8 semanas de almacenamiento)	Formulación 3 (inicial/después de 8 semanas de almacenamiento)
pH	5,7/5,8	5,6/5,7
Osmolaridad	298/301	312/308
Turbidez (UNF)	7/8	2/3
% de monómero	99/97	99/97

Lista de secuencias

<110> Nabozny, Gerald Henry
Galler, Annette Bettina
Garidel, Patrick
Loging, William Troy
Padula, Steven John
Schultz-Fademrecht, Torsten
Wang, Elaine Ee-Ling

<120> Anticuerpos anti-IL-23

<130> 09-0597

<150> 61/642.032

<151> 03-05-2012

<160> 181

<170> FastSEQ para Windows versión 4.0

<210> 1

 $\langle 211 \rangle$ 11

<212> PRT

<213> Ratón

<400> 1

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Glu Tyr Leu His
1 5 10

<210> 2
 <211> 7
 <212> PRT
 5 <213> Ratón

 <400> 2
 Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser
 1 5

 10 <210> 3
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Ratón

 15 <400> 3
 Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Phe Thr
 1 5

 20 <210> 4
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Ratón

 <400> 4
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr Leu Tyr
 1 5 10

 25 <210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Ratón

 30 <400> 5
 Phe Ala Ser Gln Ser Ile Ser
 1 5

 35 <210> 6
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Ratón

 <400> 6
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Val Tyr Leu His
 1 5 10

 40 <210> 7
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Ratón

 45 <400> 7
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr Leu His
 1 5 10

 50 <210> 8
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Ratón

 55 <400> 8
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
 1 5 10 15

<210> 9
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Ratón
 5
 <400> 9
 Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 1 5
 <210> 10
 10 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Ratón
 <400> 10
 Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr
 15 1 5
 <210> 11
 <211> 15
 <212> PRT
 20 <213> Ratón
 <400> 11
 Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Ile His
 1 5 10 15
 25 <210> 12
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Ratón
 30 <400> 12
 Leu Ala Ser Asn Leu Asp Ser
 1 5
 <210> 13
 <211> 9
 35 <212> PRT
 <213> Ratón
 <400> 13
 Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Tyr Thr
 1 5
 40 <210> 14
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Ratón
 45 <400> 14
 Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Tyr Thr
 1 5
 50 <210> 15
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Ratón
 <400> 15
 Arg Thr Ser Glu Ser Val Tyr Ser Tyr Gly Gln Asn Phe Ile His
 55 1 5 10 15
 <210> 16

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Ratón
 5 <400> 16
 Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5
 <210> 17
 <211> 9
 10 <212> PRT
 <213> Ratón
 <400> 17
 Gln Gln Thr Asn Glu Asp Pro Tyr Thr
 1 5
 15 <210> 18
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Ratón
 20 <400> 18
 Arg Ala Ser Glu Thr Ile Asn Phe Tyr Gly Thr Ser Phe Met His
 1 5 10 15
 25 <210> 19
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Ratón
 <400> 19
 Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala Val Ala
 1 5 10
 30 <210> 20
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Ratón
 35 <400> 20
 Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
 1 5
 40 <210> 21
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Ratón
 45 <400> 21
 His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe Thr
 1 5
 50 <210> 22
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Ratón
 <400> 22
 Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10
 55 <210> 23
 <211> 7

<212> PRT
 <213> Ratón

 <400> 23
 Ala Ala Arg Asn Leu Ala Asp
 5 1 5

 <210> 24
 <211> 9
 <212> PRT
 10 <213> Ratón

 <400> 24
 Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
 1 5

 15 <210> 25
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Ratón

 20 <400> 25
 Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp
 1 5

 <210> 26
 <211> 9
 25 <212> PRT
 <213> Ratón

 <400> 26
 Leu His Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
 1 5

 30 <210> 27
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Ratón

 35 <400> 27
 Arg Ala Ser Lys Ser Val Arg Phe Ser Asp Tyr Phe Tyr Met His
 1 5 10 15

 40 <210> 28
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Ratón

 <400> 28
 Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 45 1 5

 <210> 29
 <211> 9
 <212> PRT
 50 <213> Ratón

 <400> 29
 Gln Asn Ser Arg Glu Leu Pro Tyr Thr
 1 5

 55 <210> 30
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Ratón

<400> 30
 Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Asn Ala Val Val
 1 5 10

5 <210> 31
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Ratón

10 <400> 31
 Trp Ala Ser Thr Arg His Ile
 1 5

<210> 32
 <211> 8
 15 <212> PRT
 <213> Ratón

<400> 32
 Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Leu Thr
 1 5

20 <210> 33
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Ratón

25 <400> 33
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Val Ile His
 1 5 10

<210> 34
 30 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Ratón

<400> 34
 Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 35 Gly

<210> 35
 <211> 6
 <212> PRT
 40 <213> Ratón

<400> 35
 Arg Leu Asp Glu Ala Tyr
 1 5

45 <210> 36
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Ratón

50 <400> 36
 Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Leu Ile His
 1 5 10

<210> 37
 <211> 6
 55 <212> PRT
 <213> Ratón

<400> 37
 Asn Trp Asp Leu Asp Tyr
 1 5

5 <210> 38
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Ratón

10 <400> 38
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Val Met His
 1 5 10

<210> 39
 <211> 17
 15 <212> PRT
 <213> Ratón

<400> 39
 Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

20 <210> 40
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Ratón

25 <400> 40
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Ile Ile His
 1 5 10

30 <210> 41
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Ratón

<400> 41
 Tyr Ile Asn Pro Tyr Asp Asp Val Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

35 <210> 42
 <211> 6
 <212> PRT
 40 <213> Ratón

<400> 42
 Arg Trp Asp Glu Ser Tyr
 1 5

45 <210> 43
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Ratón

50 <400> 43
 Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Ser Ile Met His
 1 5 10

<210> 44
 <211> 6

<212> PRT
 <213> Ratón

 <400> 44
 Arg Trp Asp Glu Ala Tyr
 5 1 5

 <210> 45
 <211> 10
 <212> PRT
 10 <213> Ratón

 <400> 45
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asn
 1 5 10

 15 <210> 46
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Ratón

 20 <400> 46
 Val Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

 <210> 47
 <211> 9
 25 <212> PRT
 <213> Ratón

 <400> 47
 Asp Gly His Arg Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5
 30
 <210> 48
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Ratón
 35
 <400> 48
 Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Tyr Met Asn
 1 5 10

 <210> 49
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Ratón
 40
 <400> 49
 Glu Ile Ile Pro Thr Thr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 45 Ala

 <210> 50
 <211> 11
 <212> PRT
 50 <213> Ratón

 <400> 50
 Glu Ser Gly Gly Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

 55 <210> 51

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Ratón
 5 <400> 51
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp His Thr Ile His
 1 5 10
 <210> 52
 <211> 17
 10 <212> PRT
 <213> Ratón
 <400> 52
 Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Gly Tyr Pro Lys Phe Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly
 15 <210> 53
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Ratón
 20 <400> 53
 Arg Pro Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5
 <210> 54
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Ratón
 <400> 54
 Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Leu Met His
 1 5 10
 30 <210> 55
 <211> 17
 <212> PRT
 35 <213> Ratón
 <400> 55
 Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly
 40 <210> 56
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Ratón
 45 <400> 56
 Asn Trp Asp Tyr Ala Tyr
 1 5
 <210> 57
 <211> 10
 50 <212> PRT
 <213> Ratón
 <400> 57
 Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr Ala Ile Ser
 1 5 10
 55

<210> 58
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Ratón
 5
 <400> 58
 Val Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser
 1 5 10 15
 <210> 59
 10 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Ratón
 <400> 59
 Lys Asp Tyr Asn Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr
 1 5 10
 15
 <210> 60
 <211> 10
 <212> PRT
 20 <213> Ratón
 <400> 60
 Gly Phe Ser Leu Asn Asn Phe Ala Ile Ser
 1 5 10
 25
 <210> 61
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Ratón
 30 <400> 61
 Ala Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser
 1 5 10 15
 <210> 62
 <211> 11
 35 <212> PRT
 <213> Ratón
 <400> 62
 Lys Asp Tyr Ser Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr
 1 5 10
 40
 <210> 63
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Ratón
 45
 <400> 63
 Gly Asn Thr Phe Thr Asp Gln Thr Ile His
 1 5 10
 <210> 64
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Ratón
 50
 <400> 64
 Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn Glu Asn Phe Lys
 1 5 10 15
 55 Gly

<210> 65
 <211> 11
 <212> PRT
 5 <213> Ratón

 <400> 65
 Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
 1 5 10

 10 <210> 66
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Secuencia humanizada

 <400> 66
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Gln Thr Ile His
 1 5 10

 20 <210> 67
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 25 <220>
 <223> Secuencia humanizada

 <400> 67
 Gly Phe Thr Phe Thr Asp Gln Thr Ile His
 1 5 10

 30 <210> 68
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 35 <220>
 <223> Secuencia humanizada

 40 <400> 68
 Gly Gly Thr Phe Thr Asp Gln Thr Ile His
 1 5 10

 45 <210> 69
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Ratón

 <400> 69
 Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Val Met His
 1 5 10

 50 <210> 70
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Ratón

 55 <400> 70
 Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Val Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 71
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Ratón
 5
 <400> 71
 Asn Trp Asp Val Pro Tyr
 1 5
 <210> 72
 10 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Ratón
 <400> 72
 Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe Lys
 1 5 10 15
 15 Gly
 <210> 73
 <211> 17
 <212> PRT
 20 <213> Ratón
 <400> 73
 Val Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Gly Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly
 25 <210> 74
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Ratón
 30 <400> 74
 Asn Asp Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5
 <210> 75
 <211> 17
 35 <212> PRT
 <213> Ratón
 <400> 75
 Asp Phe Asn His Asn Asn Asp Val Ile Thr Tyr Asn Pro Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly
 40 <210> 76
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Ratón
 45 <400> 76
 Gly Leu Arg Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5 10
 50 <210> 77
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Ratón
 <400> 77

Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Asn Met Asn
1 5 10

<210> 78
<211> 17
5 <212> PRT
<213> Ratón

<400> 78
Val Ile Ile Pro Asn Tyr Gly Phe Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys
1 5 10 15
Gly

10 <210> 79
<211> 11
<212> PRT
<213> Ratón

15 <400> 79
Asp Gly Gly Ile Leu Leu Trp Tyr Leu Asp Val
1 5 10

20 <210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

25 <400> 80
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn Met Asp
1 5 10

30 <210> 81
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 81
Asp Ile Asn Pro His Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

35 <210> 82
<211> 13
<212> PRT
<213> Ratón

40 <400> 82
Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

45 <210> 83
<211> 333
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 83
gacattgtgc tgacccaatc tccaggttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc 60
atatcctgca gaaccagtga aagtgtttat agttatggcc aaaattttat acactggtac 120
cagcagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatc gtgcatccaa cctggaatct 180
gggatccctg ccaggttcag tggcagtggg tctaggacag acttcaccct caccatgaat 240
cctgtggagg ctgatgatgt tgcaacctat tactgtcagc aaactaatga ggatccgtac 300
acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aga 333

50 <210> 84

<211> 111
<212> PRT
<213> Ratón

5 <400> 84
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Thr Ser Glu Ser Val Tyr Ser Tyr
20 25 30
Gly Gln Asn Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Met Asn
65 70 75 80
Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn
85 90 95
Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Arg
100 105 110

<210> 85
<211> 321
10 <212> ADN
<213> Ratón

<400> 85
gacattgtga tgaccagtc tcacaaattc ttgtccacat cagtgggaga cagggtcacc 60
atcacttgca aggccagtcg ggatgtggct attgctgtag cctgggtatca acagaaacca 120
gggcaatctc cttaaactact tcttttctgg gcatccaccc gacacactgg ggtccctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tcggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgcagtct 240
gaagacttgg cagattattt ctgtcaccaa tatagcagct atccattcac gttcggctcg 300
gggacaaaagt tggaaataaa g 321

15 <210> 86
<211> 107
<212> PRT
20 <213> Ratón

<400> 86
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Leu
35 40 45
Phe Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

25 <210> 87
<211> 333
<212> ADN
<213> Ratón

30 <400> 87

```

gacattgcgc tgacccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctggggca gagggccacc 60
atatcctgca gagccagtga aactattaat ttttatggca ctagttttat gcactgggtac 120
cagcagaaac caggacagtc acccaaactc ctcactctatc gtgcatccaa cctagaatct 180
gggatccctg ccaggttcag tggcagtggg tctaggacag acttcaccct caccattaat 240
cctgtggagg ctgatgatgt tgcaacctat tactgtcagc aaactaatga ggatccgtac 300
acgttcggag gggggactaa gttggaaata aaa 333

```

<210> 88

<211> 111

<212> PRT

<213> Ratón

<400> 88

```

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

```

<210> 89

<211> 336

<212> ADN

<213> Ratón

<400> 89

```

gatgttggtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60
atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tttacattgg 120
tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctctgatct acaaagtctc caaccgattt 180
tctgggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
aacagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
tacacgttcg gaggggggac ccagctggaa ataaaa 336

```

<210> 90

<211> 112

<212> PRT

<213> Ratón

<400> 90

```

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

```

<210> 91

<211> 107

<212> PRT
<213> Ratón

<400> 91

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

5

<210> 92
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

10

<400> 92

gacattgtga	tgactcagtc	tccagccacc	ctgtctgtga	ctccaggaga	tagagtctct	60
ctttcctgca	gggccagtca	gagtattagc	gactacttat	actgggatca	acaaaaatca	120
catgagtctc	caaggcttct	catcaaattt	gcttcccaat	ccatctctgg	gatcccctcc	180
aggttcactg	gcagtggatc	agggtcagat	ttcactctca	gtatcgacag	tgtggaacct	240
gatgatgttg	gagtcctttt	ctgtcaaaat	ggtcacagct	ttccgttcac	gttcggaggg	300
gggaccaagc	tggaataaaa	a				321

15

<210> 93
<211> 107
<212> PRT
<213> Ratón

20

<400> 93

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

25

<210> 94
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 94

```

gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
ctttcctgca gggccagcca gagtattagc gactacttac actgggtatca acaaaaaatca 120
catgagtctc caaggcttct catcaaatat gcttcccaat ccatctctgg gatcccctcc 180
aggttcagtg gcagtggatc agggtcagat ttcactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
gaagatgttg gagtgtatta ctgtcaaaat ggtcacagct ttccattcac gttcggctcg 300
gggacaaaagtg gaaataaaa a 321

```

<210> 95

<211> 107

5 <212> PRT

<213> Ratón

<400> 95

```

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

```

10

<210> 96

<211> 321

<212> ADN

<213> Ratón

15

<400> 96

```

gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
ctttcctgca gggccagcca gagtattagc gactacttat actgggtatca acaaaaaatca 120
catgagtctc caaggcttct catcaaattt gcttcccaat ccatctctgg gatcccctcc 180
aggttcactg gcagtggatc agggtcagat ttcactctca gtatcgacag tgtggaacct 240
gatgatgttg gagtcttttt ctgtcaaaat ggtcacagct ttccgttcac gttcggaggg 300
gggaccaaacg tggaaataaaa a 321

```

<210> 97

20 <211> 107

<212> PRT

<213> Ratón

<400> 97

```

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

```

25

<210> 98

<211> 321

<212> ADN
<213> Ratón

<400> 98
gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
ctttcctgca gggccagcca gagtattagc gagtatttac actggtatca acaaaaatca 120
catgagtctc caaggcttct catcaaataat gcttcccaat ccatctctgg gatcccctcc 180
aggttcagtg gcagtggatc agggtcagat ttcactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
gaagatgttg gagtttatta ctgtcaaaat ggtcacagct ttccattcac gttcgggtcg 300
gggacaaaagt tggaaataaa a 321

<210> 99
<211> 107
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 99
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Glu Tyr
20 25 30
Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 100
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 100
gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
ctctcctgca gggccagcca gagtattagc gtctacttac actggtatca acaaaaatca 120
cctgagtctc caaggcttct catcaaataat gcttcccaat ccatctctgg gatcccctcc 180
aggttcagtg gcagtggatc agggtcagat ttcactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
gaagatgttg gagtttatta ctgtcaaaat ggtcacagct ttccattcac gttcgggtcg 300
gggacaaaagt tggaaataaa a 321

<210> 101
<211> 107
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 101

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

<210> 102
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Ratón

<400> 102	
gacattgtga	tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaaa tagagtctct 60
ctttcctgca	gggccagcca gactattagc gactacttac actggtatca acaaaaatca 120
catgagtcctc	caaggcttct catcaaatat gcttcccaat ccatctctgg gatcccctcc 180
agggttcagtg	gcagtggatc agggctcaaat ttactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
gaagatgttg	gagtgattta ttgtcaaaat ggtcacagct ttccattcac gttcggctcg 300
gggacaaaagt	tggaataaaa a 321

<210> 103
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Ratón

<400> 103															
Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Val	Thr	Pro	Gly
1				5					10					15	
Asn	Arg	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Ser	Asp	Tyr
			20					25					30		
Leu	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Ser	His	Glu	Ser	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile
		35				40						45			
Lys	Tyr	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Ser	Gly	Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Asn	Phe	Thr	Leu	Ser	Ile	Asn	Ser	Val	Glu	Pro
65					70					75					80
Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Asn	Gly	His	Ser	Phe	Pro	Phe
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys					
			100					105							

<210> 104
 <211> 333
 <212> ADN
 <213> Ratón

<400> 104	
gacattgtgc	tgacacagtc tctgtcttcc ttagctgttt ctctggggca gagggccacc 60
atctcatgca	gggccagcaa aagtgtcaga ttctctgact atttttatat gactggtac 120
caacagaaac	caggacagcc acccaactc ctcatctacc ttgcatccaa cctagaatct 180
ggggtccctg	ccagggttcag tggcagtggt tctgggacag acttcaccct caacatccat 240
cctgtggagg	aggaggatgc tgcaacctat tactgtcaga acagtaggga gcttcggtac 300
acgttcggag	gggggaccaa gctggagata aaa 333

<210> 105
 <211> 111

<212> PRT
<213> Ratón

<400> 105

```

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

```

5

<210> 106
<211> 333
<212> ADN
<213> Ratón

10

<400> 106

```

gacattgtgt tgacacagtc tcctgcttcc ttagctgtat ctctggggca gagggccacc 60
atctcatgca gggccagcaa aagtgtcagt acatctggct atagttatat aactgggtac 120
caacagaaac cgggacagcc acccaaattc ctcattctatc ttgcatccaa cctagattct 180
ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggt tctgggacag acttcaccct caacatccat 240
cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc acagtaggga gcttccgtac 300
acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aaa 333

```

15

<210> 107
<211> 111
<212> PRT
<213> Ratón

20

<400> 107

```

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

```

<210> 108
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

25

<400> 108

```

gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
ctttcctgca gggccagcca gattattagc gactacttac actggtatca acaaaaatca 120
catgagtcct caaggcttct catcaaatac gcttcccaat ccattctctgg gatcccctcc 180
aggttcagtg gcagtggatc aggggtcagat ttactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
gaagatgttg gagtgtatta ctgtcaaaat gggtcacagct ttccgtacac gttcggaggg 300
gggaccaagc tggaaataaa a 321

```

<210> 109
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Ratón

5

<400> 109
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

10 <210> 110
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Ratón

15 <400> 110
 gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60
 atctcttgca gatctagtca gaggcttgta cacagtaatg gaaacaccta ttacattgg 120
 tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctctgatct acaaagtttc caaccgattt 180
 tctgggggtcc ccgacagggt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
 tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaat 336

20 <210> 111
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Ratón

<400> 111
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
 85 90 95
 Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn
 100 105 110

25

<210> 112
 <211> 318
 <212> ADN
 <213> Ratón

30

<400> 112

```

gacattatga tgacccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga caggggtcagc 60
atcacctgca aggccagtc ggaatgtgggt aatgctgtgg tctggtatca acaaaaacca 120
gggcaatctc ctaaactact gatttactgg gcatccaccc ggcacattgg agtccctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccattaccaa tgtgcagtct 240
gaagacttgg cagattattt ctgtcagcaa tatagcagct atctcacgtt cgggtgctggg 300
accaagctgg agctgaaa 318

```

<210> 113
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Ratón

```

<400> 113
Asp Ile Met Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1      5      10      15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Asn Ala
20     25     30
Val Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35     40     45
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Ile Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50     55     60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser
65     70     75     80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Leu Thr
85     90     95
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100    105

```

<210> 114
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Ratón

```

<400> 114
gatgttgtga tgacccaatc tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60
atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tctacattgg 120
tacctgctga agccaggcca gtctccaaag ctctgatct acaaagtttc caaccgattt 180
tctgggggtcc cagacagggt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

```

<210> 115
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Ratón

```

<400> 115
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1      5      10      15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20     25     30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Leu Lys Pro Gly Gln Ser
35     40     45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50     55     60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65     70     75     80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85     90     95
Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100    105    110

```

<210> 116
 <211> 321

<212> ADN
<213> Ratón

<400> 116
gacatccaga tgactcagtc tccagttttc ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60
atcacatgtc gagcaagtga gaattattgac agttatttag catggtatca gcagaaacag 120
ggaaaatctc ctcagctcct ggtctttgct gcacgaaact tagcagatgg tgtgccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag tattctctca agatcaacag aatgcagtct 240
gaagatgttg cgagatacta ctgtcaacat tattatagta ctccattcac gttcggctcg 300
5 gggacaaagt tggaaataga a 321

<210> 117
<211> 107
<212> PRT
10 <213> Ratón

<400> 117
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Val Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45
Phe Ala Ala Arg Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Arg Met Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Glu
100 105

15 <210> 118
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

20 <400> 118
gacatccaga tgactcagtc gccagcttcc ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcatc 60
ttcacatgtc gagcaagtga gaattattgac agttatttag catggtatca gcagaaacag 120
ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatgct gcaacaaact tagcagatgg tgtgccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag tattctctca agatcaacag cctgcagtct 240
gaagatgttg cgagatatta ctgtctacat tattatagta ctccattcac gttcggctcg 300
gggacagagt tggaaataaa a 321

<210> 119
<211> 107
25 <212> PRT
<213> Ratón

<400> 119

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

<210> 120
 <211> 357
 <212> ADN
 <213> Ratón

<400> 120
 caggtgcagc tgaaggagtc aggacctggc ctggtggcgc cctcacagag cctgtccatc 60
 acatgcactg tctctgggtt ctcattaacc acctatgcta taagctgggt tcgccagtca 120
 ccaggaaagg gtctggagtg gcttggagtc atatggactg gtggaggcac aaaatataat 180
 tcagctctca aatccagact gagcatcagc aaagacaact ccaagagtca agttttctta 240
 aaaatgaaca gtctgcaaac tgatgacaca gccagggtact actgtgccag aaaggactat 300
 aattacgggg gtgctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctctctca 357

<210> 121
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Ratón

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

<210> 122
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Ratón

<400> 122
 caggttcagc tgcaacagtc tgacgctgag ttggtgaaac ctggcacttc agtgaagaca 60
 tcctgcaaaa tttctggcaa caccttcact gaccaaacta ttcactggat gaagcagagg 120
 cctgaacagg gcctggaatg gattggatat atttatccta gagatgatag tcctaagtac 180
 aatgagaact tcaagggcaa ggccacattg actgcagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atgcagctca acagtctgac atctgaggac tctgcagtct atttctgtgc aatcccagac 300
 aggtcaggct acgcctgggt tattttactgg ggccaaggga ctctgggtcac tgtctcttca 360

<210> 123
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Ratón

5

<400> 123
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Asp Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Thr Ser Cys Lys Ile Ser Gly Asn Thr Phe Thr Asp Gln
 20 25 30
 Thr Ile His Trp Met Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn Glu Asn Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 124
 <211> 357
 <212> ADN
 <213> Ratón

10

<400> 124
 caggtgcagc tgaaggagtc aggacctgtc ctggtggcgc cctcacagag cctgtccatc 60
 acatgcactg tctctgggtt ctcattaaac aactttgcta taagttgggt tcgtcagcca 120
 ccaggaaagg gtctggagtg gcttggagca atatggactg gtggaggcac aaattataat 180
 tcagctctca aatccagact gagcatcagc aaagacaact ccaagagtca agttttctta 240
 aaaatgaaca gtctgcaaac tgatgacaca gccagggtatt attgtgtcag aaaggactat 300
 agttacgggg gtgctatgga ctactgggggt caaggaacct cagtcaccgt ctctctca 357

15

<210> 125
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Ratón

20

<400> 125
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Ala Ile Trp Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
 65 70 75 80
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Val
 85 90 95
 Arg Lys Asp Tyr Ser Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

25

<210> 126
 <211> 354
 <212> ADN
 <213> Ratón

30

<400> 126
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgtg ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgtaagg cttctggata cacattcact gactactata tgaactgggt gaagcagagc 120
catggaaaga gccttgagtg gattggagtt attattcctt acaacgggtg tactagctac 180
aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgttgaca agtcctccag cacagcctac 240
atggagctca acagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc acgagatggt 300
caccgctggt acttcgatgt ctggggcaca gggaccacgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 127
<211> 118
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 127
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gly His Arg Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 128
<211> 115
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 128
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Cys Cys
20 25 30
Ile Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Trp Asp Glu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala
115

<210> 129
<211> 345
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 129

```

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtcaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cacattcact cgctatctta ttactgggt gaaacagaag 120
cctgggcagg gccttgagt gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaaatac 180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtac ctctaactgg 300
gacctcgact actggggcca aggaccact ctcacagtct cctca 345

```

<210> 130
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Ratón

```

<400> 130
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1      5      10      15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
20     25     30
Leu Ile His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35     40     45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50     55     60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65     70     75     80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85     90     95
Thr Ser Asn Trp Asp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100    105    110
Val Ser Ser
115

```

<210> 131
 <211> 345
 <212> ADN
 <213> Ratón

```

<400> 131
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgaa gtggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cctctggata cacattcact agttctgtta tacactgggt gaagcagaag 120
gctgggcagg gccttgagt gattggatat atcaatccct ataatgatgg tactaagtac 180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca gatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtac aagacgggtg 300
gacgaggctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

```

<210> 132
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Ratón

```

<400> 132
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1      5      10      15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser

```

[illegible]

<210> 133
<211> 345
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 133						
gaggtccagc	tgcagcagtc	tggacctgag	ctggtaaagc	ctggggctgc	agtgaagatg	60
tcctgcaagg	cttctggata	cacattcact	cgctatctta	ttcactgggt	gaagcagaag	120
cctgggcagg	gccttgagtg	gattggatat	attaatcctt	acaatgatgg	tactaaatat	180
aatgagaagt	tcaaaggcaa	ggccacactg	acttcagaca	aatcctccag	cacagcctac	240
atggagctca	gcagcctgac	ctctgaggac	tctgcggtct	attactgtac	ctctaattgg	300
gacctcgact	actggggcca	aggcaccact	ctcacagtct	cctca		345

<210> 134
<211> 115
<212> PRT
<213> Ratón

[illegible]

<210> 135
<211> 345
<212> ADN
<213> Ratón

<400>	135						
gaggtccagc	tgcagcagtc	tggacctgaa	ctggtaaagc	ctgggggcttc	agtgaagatg	60	
tcctgcaagg	cctctggata	cacattcact	agttctgtta	tgcactgggt	gaagcagaag	120	
gctgggcagg	gccttgagtg	gattggatat	atcaatccct	ataatgatgg	tactcagtac	180	
aatgagaagt	tcaaaggcaa	ggccacactg	acttcagaca	aattttccag	cacagcctac	240	
atggagctca	gcagcctgac	ctctgaggac	tctgcggtct	attactgtac	aagacggttg	300	
gacgaggctt	ctaggggccca	agggactctg	gtcactgtct	ctgca		345	

<210> 136
<211> 115

<212> PRT
<213> Ratón

<400> 136
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser
20 25 30
Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Ala Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Phe Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Arg Leu Asp Glu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala
115

5

<210> 137
<211> 345
<212> ADN
<213> Ratón

10

<400> 137
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cacattcact agctctatta ttactgggt gaagcagagg 120
cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatacctt acgatgatgt tactaagtac 180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcgggtct attactgtgc aagacggtgg 300
gacgagtctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

15

<210> 138
<211> 115
<212> PRT
<213> Ratón

20

<400> 138
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser
20 25 30
Ile Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asp Asp Val Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Trp Asp Glu Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala
115

25

<210> 139
<211> 345
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 139

```

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctgggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cactttcact acctctatta tgcactgggt gaaacagaag 120
cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatacctt acgatgatgt tactaagtac 180
aatgaaaagt tcaaaggcaa ggccacattg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcagtct attactgtgt aagacgggtg 300
gacgaggctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

```

<210> 140
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Ratón

```

<400> 140
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1          5          10          15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Ser
 20          25          30
Ile Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35          40          45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asp Asp Val Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50          55          60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65          70          75          80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85          90          95
Val Arg Arg Trp Asp Glu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100          105          110
Val Ser Ala
115

```

<210> 141
 <211> 357
 <212> ADN
 <213> Ratón

```

<400> 141
gaggtccagc tgcaacaatc tggacctgag ctgggtgaagc ctgggggcttc agtgaagata 60
tcctgtaagg cttctggata caggtttact gactactaca tgaactgggt gaggcagagc 120
catggagaga gccttgagtg gattggagat tttaatcata acaatgatgt tattacttac 180
aaccggaagt tcaagggcaa ggtcacattg actgtagaga agtcttccac cacagcctac 240
atggagctcc gcagcctgtc atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagggggcta 300
cgaggctact atgctatgga ctactgggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctca 357

```

<210> 142
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Ratón

```

<400> 142
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1          5          10          15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20          25          30
Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ser His Gly Glu Ser Leu Glu Trp Ile
 35          40          45
Gly Asp Phe Asn His Asn Asn Asp Val Ile Thr Tyr Asn Pro Lys Phe

```

50		55		60
Lys Gly Lys Val Thr	Leu Thr Val Glu Lys	Ser Ser Thr Thr Ala Tyr		
65	70	75	80	
Met Glu Leu Arg Ser	Leu Ser Ser Glu Asp	Ser Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90	95	
Ala Arg Gly Leu Arg Gly Tyr Tyr	Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
	100	105	110	
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser				
115				

<210> 143
 <211> 354
 <212> ADN
 <213> Ratón

<400> 143
 cagggttcagc tgcaacagtc tgacgctgag ttggtgaaac ctggagcttc agtgaagata 60
 tcctgcaagg tttctggcta caccttcact gaccatacta ttactggat gaagcagagg 120
 cctgaacagg gcctggaatg gattggatat atttataccta gagatgggta tcctaagttc 180
 aatgagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgcagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atgcagctca acagcctgac atctgaggac tctgcagtct atttctgtgc aagacggccc 300
 ccttactatg ctatggacta ctgggggtcaa ggaacctcag tcgccgtctc ctca 354

<210> 144
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Ratón

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

<210> 145
 <211> 345
 <212> ADN
 <213> Ratón

<400> 145
 gaggtccaac tgcagcagtc tggacctgag ctggttaaagc ctgggggcttc agtgaagatg 60
 tcctgcaagg cttctggata cacattcact aggtatctta tgactgggt gaagcagaag 120
 cctgggcagg gccttgagtg gattgggttat attaatacctt acaatgatgg tactaattac 180
 aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgttc ccttaactgg 300
 gactatgctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 146
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Ratón

<400> 146

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

<210> 147

<211> 360

<212> ADN

<213> Ratón

<400> 147

gagttccagc	tgcagcagtc	tggacctgag	ctggtgaagc	ctggcgcttc	agtgaagata	60
tcctgcaagg	cttctgggta	ctcattcact	gactacaaca	tgaactgggt	gaagcagagc	120
aaaggaaaga	gccttgagtg	gattggagta	attattccta	actatgggtt	tactagctac	180
aatcagaact	tcaagggcaa	ggccactttg	actgtagacc	agtcttccag	cacagcccac	240
atgcagctca	acagtgtgac	atctgaggac	tctgcagtct	attactgtgt	aagagatggg	300
ggaatactcc	tctgggtatct	cgatgtctgg	ggcacaggga	ccacgggtcac	cgtctcctca	360

<210> 148

<211> 120

<212> PRT

<213> Ratón

<400> 148

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

<210> 149

<211> 366

<212> ADN

<213> Ratón

<400> 149

```

gaggtccagc tgcacacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctgggggcttc agtgaagata 60
ccctgcaagg cttctggata cacattcact gactacaaca tggactgggt gaagaagagc 120
catggaaaga gccttgagtg gattggagat atcaatcctc acaatgggtg tactatctac 180
aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcccac 240
atggagctcc gcagcctgac atctgaggac actgcagtct attactgtgc aagaaattac 300
tacggtagta gttacggctg gtacttcgat gtctggggca cagggaccac ggtcaccgtc 360
tcgtca 366

```

<210> 150
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Ratón

```

<400> 150
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Pro Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Asn Met Asp Trp Val Lys Lys Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Pro His Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Ala His
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp
100 105 110
Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

```

<210> 151
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Ratón

```

<400> 151
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctgggggcttc agtgaagatt 60
tcctgcaggg cttctgggta ctcattcact ggctactaca tgaactgggt gaagcaaagt 120
cctgaaaaga gccttgagtg gattggagag attattccta ccactgggtg tacttcctac 180
aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240
atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagagagagc 300
ggtgggttct actggtactt cgatgtctgg ggcacaggga ccacgggtcac cgtctcctca 360

```

<210> 152
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Ratón

```

<400> 152
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Glu Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Ile Pro Thr Thr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

```

Lys	Ala	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Gln	Leu	Lys	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85					90						95	
Ala	Arg	Glu	Ser	Gly	Gly	Phe	Tyr	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Thr
			100					105					110		
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
		115					120								

<210> 153
 <211> 345
 <212> ADN
 <213> Ratón

<400> 153
 gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggccttc agtgaagatg 60
 tcctgcaagg cttctggata cacattcact aggtatgtta tgcactgggt gaagcagaag 120
 cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgt tactaagtac 180
 aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca gatcctccag cacagcctac 240
 atgaaactca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attattgtgc aagaaactgg 300
 gacgttcctt actggggcca agggactctg atcactgtct ctgca 345

<210> 154
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Ratón

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

<210> 155
 <211> 345
 <212> ADN
 <213> Ratón

<400> 155
 gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggccttc agtgaagatg 60
 tcctgcaagg cttctggata cacattcact aggtatctta tgcactgggt gaagcagaag 120
 cctggacagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaagtac 180
 aatgagaggt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagaaactgg 300
 gacgtacctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 156
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Ratón

<400> 156

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

<210> 157
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia humanizada

<400> 157
 gacatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcca ccgcgtgacc 60
 atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctgggtacca gcagaagcca 120
 ggcaaggtgc caaagctgct gctgttctgg gccagcaccg gccacaccgg cgtgccagac 180
 cgcttcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
 gaggacctgg ccgactacta ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggccag 300
 ggcaccaagc tggagatcaa g 321

<210> 158
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Ratón

<220>
 <223> Secuencia humanizada

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

<210> 159
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia humanizada

```
<400> 159
gacatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga ccgcgtgacc 60
atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
ggcaaggtgc caaagctgct gatctactgg gccagcaccg gccacaccgg cgtgccaagc 180
cgcttcagcg gcagcggcag ccgcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
gaggacgtgg ccgactactt ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggcagc 300
ggcaccaagc tggagatcaa g                                     321
```

```
<210> 160
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
```

```
<220>
<223> Secuencia humanizada
```

```
<400> 160
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20          25          30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35          40          45
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50          55          60
Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65          70          75          80
Glu Asp Val Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
85          90          95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100         105
```

```
<210> 161
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
```

```
<220>
<223> Secuencia humanizada
```

```
<400> 161
gacatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga ccgcgtgacc 60
atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
ggcaaggtgc caaagctgct gatctactgg gccagcaccg gccacaccgg cgtgccaagc 180
cgcttcagcg gcagcggcag ccgcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
gaggacgtgg ccgactactt ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggcagc 300
ggcaccaagc tggagatcaa g                                     321
```

```
<210> 162
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
```

```
<220>
<223> Secuencia humanizada
```

```
<400> 162
```

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

<210> 163
 <211> 321
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia humanizada

10 <400> 163
 gacatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga ccgcgtgacc 60
 atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
 ggcaaggtgc caaagctgct gctgttctgg gccagcaccg gccacaccgg cgtgccagac 180
 cgcttcagcg gcagcggcag ccgcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
 gaggacctgg ccgactacta ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggcagc 300
 ggcaccaagc tggagatcaa g 321

15 <210> 164
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 20 <223> Secuencia humanizada

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

25 <210> 165
 <211> 360
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia humanizada

<400> 165

```
caggtgcagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaaggtg 60
agctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gaccagacca tccactggat gcgccaggcc 120
ccaggccagg gcctggagtg gatcggctac atctaccac gcgacgacag cccaaagtac 180
aacgagaact tcaagggcaa ggtcaccatc accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgccgtgt actactgcgc catcccagac 300
cgcagcggct acgcctggtt catctactgg ggccagggca ccctggtgac cgtgagcagc 360
```

<210> 166

<211> 120

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

10

<400> 166

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

<210> 167

15 <211> 360

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Secuencia humanizada

<400> 167

```
caggtgcagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaaggtg 60
agctgcaagg ccagcggctt caccttcacc gaccagacca tccactgggt gcgccaggcc 120
ccaggccagg gcctggagtg gatgggctac atctaccac gcgacgacag cccaaagtac 180
aacgagaact tcaagggcaa ggtcaccctg accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgccgtgt actactgcgc catcccagac 300
cgcagcggct acgcctggtt catctactgg ggccagggca ccctggtgac cgtgagcagc 360
```

25 <210> 168

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 168

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

<210> 169

<211> 360

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 169

```

caggtgcagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaagacc 60
agctgcaagg ccagcggcgg caccttcacc gaccagacca tccactgggt gcgccagcgc 120
ccaggccagg gcctggagtg gatgggctac atctaccacac gcgacgacag cccaaagtac 180
aacgagaact tcaagggccg cgtcaccatc accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgccgtgt actactgcgc catcccagac 300
cgcagcggct acgcctggtt catctactgg ggccagggca ccctggtgac cgtgagcagc 360

```

<210> 170

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 170

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

<210> 171

<211> 360

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 171

```
caggtgcagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaaggtg 60
agctgcaagg ccagcggcgg caccttcacc gaccagacca tccactgggt gcgccaggcc 120
ccaggccagg gcctggagtg gatgggctac atctaccac gcgacgacag cccaaagtac 180
aacgagaatt tcaagggccg cgtcacccctg accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgccgtgt acttctgcgc ccgccagac 300
cgcagcggct acgcctgggt catctactgg ggccagggca ccctggtgac cgtgagcagc 360
```

<210> 172

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 172

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

<210> 173

<211> 642

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 173

```
gacatccaga tgaccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga ccgcgtgacc 60
atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
ggcaaggtgc caaagctgct gatctactgg gccagcaccg gccacaccgg cgtgccaaagc 180
cgcttcagcg gcagcggcag ccgcaccgac ttaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
gaggacgtgg ccgactactt ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggcagc 300
ggcaccaagc tggagatcaa gcgtactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642
```

<210> 174

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada

<400> 174

```

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

```

- 5 <210> 175
 <211> 1347
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

- 10 <220>
 <223> Secuencia humanizada

<400> 175

```

caggtgcagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaaggtg 60
agctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gaccagacca tccactggat gcgccaggcc 120
ccaggccagg gcctggagtg gatcggctac atctaccac ggcagcagac cccaaagtac 180
aacgagaact tcaagggcaa ggtcaccatc accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
atggagctga gcagcctgcg cagcaggagc accgccgtgt actactgcgc catcccagac 300
cgcagcggct acgcctgggt catctactgg ggccagggca ccctgggtgac cgtgagcagc 360
gcctccacca agggcccata ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420
ggcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcggt cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540
ggactctact cctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 600
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tgcacaagag agttgagccc 660
aaatcttgtg aaaaaactca cacatgcccc ccgtgcccag caccagaagc tgctggggga 720
ccgtcagttc tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctc 780
gaggtcacat gcgtcgtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggt
1347

```

15

<210> 176
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Secuencia humanizada

<400> 176
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Gln
 20 25 30
 Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn Glu Asn Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Lys Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

10

325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly

<210> 177
 <211> 1347
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia humanizada

<400> 177
 caggtgcagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaaggtg 60
 agctgcaagg ccagcggctt cacccttcacc gaccagacca tccactgggt gcgccaggcc 120
 ccaggccagg gcctggagtg gatgggttac atctaccac gcgacgacag cccaaagtac 180
 aacgagaact tcaagggcaa ggtcacccctg accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
 atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgccgtgt actactgcgc catcccagac 300
 cgcagcggct acgcctgggt catctactgg ggccagggca ccctgggtgac cgtgagcagc 360
 gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420
 ggcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggg gacgggtgtc 480
 tggaaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540
 ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 600
 tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tcgacaagag agttgagccc 660
 aaatcttggt acaaaaactca cacatgcccc ccgtgcccag caccagaagc tgctggggga 720
 ccgtcagctt tctcttcccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctt 780
 gaggtcacat gcgtcgtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840
 tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900
 agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactgggt gaatggcaag 960
 gagtacaagt gcaagggtct caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
 aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080
 atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200
 ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260
 cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320
 cagaagagcc tctccctgtc tccgggt 1347

<210> 178
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia humanizada

<400> 178
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Gln
 20 25 30
 Thr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn Glu Asn Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly

<210> 179
 <211> 642
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia humanizada

<400> 179
gacatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga ccgcgtgacc 60
atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
ggcaaggtgc caaagctgct gctgttctgg gccagcacc gccacaccgg cgtgccagac 180
cgcttcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
gaggacctgg ccgactacta ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggccag 300
ggcaccaagc tggagatcaa gcgtactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcga 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 180
5 <211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> Secuencia humanizada

<400> 180
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Leu
35 40 45
Phe Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

15 <210> 181
<211> 189
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

20 <400> 181
Met Leu Gly Ser Arg Ala Val Met Leu Leu Leu Leu Pro Trp Thr
1 5 10 15

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

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-23p19, en la que dicho anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:174 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:176, en la que dicha composición farmacéutica comprende:
 5 90 mg/ml de dicho anticuerpo y polisorbato 20 0,16 mmol/l, en la que dicha composición farmacéutica comprende además (i) sorbitol 240 mmol/l o (ii) ácido succínico 0,5 mmol/l, succinato de disodio hexahidratado 3,9 mmol/l y sorbitol 225 mmol/l, en la que el pH de dicha composición farmacéutica está en el intervalo de pH 5,5 a 6,5.
 10
2. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, para su uso en el tratamiento de un sujeto que padece un trastorno asociado a IL-23, en la que dicho anticuerpo se une a IL-23 humana, en la que dicha enfermedad es una enfermedad inflamatoria, una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad respiratoria, un trastorno metabólico o cáncer.
 15
3. Composición farmacéutica para el uso según la reivindicación 2, en la que la enfermedad es psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, artritis reumatoide o espondiloartritis.
 20
4. Composición farmacéutica para el uso según la reivindicación 2, en la que la enfermedad es psoriasis en placas, psoriasis en placas crónica o psoriasis en placas crónica de moderada a grave.
- 25 5. Composición farmacéutica para el uso según la reivindicación 2, en la que la enfermedad es psoriasis pustulosa palmar, psoriasis en gotas, psoriasis flexural, psoriasis pustulosa o psoriasis eritrodermica.
6. Composición farmacéutica para el uso según la reivindicación 2, en la que la enfermedad es enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa.
 30
7. Composición farmacéutica para el uso según la reivindicación 2, en la que la enfermedad es espondilitis anquilosante, espondiloartritis axial no radiográfica o espondiloartritis periférica.
8. Composición farmacéutica para el uso según la reivindicación 2, en la que la enfermedad es lupus discoide, malaria, melanoma maligno, anemia aplásica, enfermedad de Huntington, pustulosis palmoplantar, nefritis por IgA, vasculitis asociada a ANCA, escleritis o septicemia.
 35
9. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, en la que dicha composición farmacéutica comprende:
 40 90 mg/ml de dicho anticuerpo y polisorbato 20 0,16 mmol/l, en la que dicha composición farmacéutica comprende además sorbitol 240 mmol/l.
10. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, en la que dicha composición farmacéutica comprende:
 45 90 mg/ml de dicho anticuerpo y polisorbato 20 0,16 mmol/l, en la que dicha composición farmacéutica comprende además ácido succínico 0,5 mmol/l, succinato de disodio hexahidratado 3,9 mmol/l y sorbitol 225 mmol/l.
11. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, en la que dicha composición farmacéutica está en el intervalo de pH 5,5-6,1.
 50

Figura 1a

Regiones Vk modificadas por ingeniería de anticuerpo anti-IL-23p19 6B8

> Vk de 6B8	DI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
> Vk#65 hum.	DI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
> Vk#66 hum.	DI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
> Vk#67 hum.	DI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
> Vk#78 hum.	DI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100

Figura 1b

Regiones VH modificadas por ingeniería de anticuerpo anti-IL-23p19 6B8

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
> VH de 6B8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											</

Figura 2

