

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 901 400**

51 Int. Cl.:

C07K 16/40 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.06.2014 PCT/US2014/041204**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.12.2014 WO14197752**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.06.2014 E 14737087 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.10.2021 EP 3004171**

54 Título: **Métodos para inhibir la aterosclerosis administrando un inhibidor de PCSK9**

30 Prioridad:

07.06.2013 US 201361832459 P

07.06.2013 EP 13305762

17.10.2013 US 201361892215 P

18.10.2013 EP 13306436

26.02.2014 US 201461944855 P

23.05.2014 US 201462002508 P

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

22.03.2022

73 Titular/es:

REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (50.0%)

777 Old Saw Mill River Road

Tarrytown, NY 10591-6707, US y

SANOFI BIOTECHNOLOGY (50.0%)

72 Inventor/es:

SASIELA, WILLIAM J.;

GUSAROVA, VIKTORIA;

PEYMAN, ANUSCH;

SCHAEFER, HANS-LUDWIG y

SCHWAHN, UWE

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 901 400 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

Métodos para inhibir la aterosclerosis administrando un inhibidor de PCSK9

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere al campo de tratamientos terapéuticos para aterosclerosis. Más específicamente, la invención se refiere a la administración de inhibidores de la proproteína convertasa subtilisina/kexina de tipo 9 (PCSK9) para inhibir la formación de placas ateroscleróticas en un sujeto.

Antecedentes

10 La aterosclerosis representa la causa principal de muerte y morbilidad cardiovascular en el mundo occidental. Los factores de riesgo de aterosclerosis incluyen niveles altos de colesterol de lipoproteína de baja densidad (LDL), niveles bajos de colesterol de lipoproteína de alta densidad (HDL), hipertensión, diabetes *mellitus*, antecedentes familiares, género masculino, tabaquismo y colesterol alto en suero.

15 La proproteína convertasa subtilisina/kexina de tipo 9 (PCSK9) es una proproteína convertasa que pertenece a la subfamilia de proteinasa K de la familia de subtilasa secretora. Es una serina proteasa implicada en el metabolismo de LDL que se expresa principalmente en el hígado, el riñón y los intestinos. Las evidencias sugieren que PCSK9 aumenta el colesterol LDL en plasma promoviendo la degradación del receptor de LDL, que media la endocitosis de LDL en el hígado, la ruta principal de la eliminación de LDL de la circulación.

20 El uso de inhibidores de PCSK9 (anticuerpos anti-PCSK9) para reducir el colesterol total en suero, colesterol LDL y triglicéridos en suero se ha descrito en las patentes de Estados Unidos n.º 8.062.640, 8.357.371 y la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º 2013/0064834. No obstante, no se ha informado de que los inhibidores de PCSK9 reduzcan o inhiban la progresión de la formación de placas ateroscleróticas en un sujeto. Sigue habiendo una necesidad en la técnica de métodos terapéuticos de inhibición de la formación de placas ateroscleróticas.

Breve compendio de la invención

25 La presente invención aborda la necesidad en la técnica de métodos terapéuticos proporcionando composiciones para su uso en métodos de reducción de la gravedad de lesiones o reducción del área de lesión esclerótica en al menos un 2 % en un sujeto humano que tiene aterosclerosis. En determinados aspectos, los métodos en general comprenden seleccionar un sujeto que tiene aterosclerosis, y administrar por vía subcutánea al sujeto una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo o proteína de unión a antígeno que comprende una HCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:1 y una LCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6 (inhibidor de PCSK9).

30 En determinadas realizaciones, el sujeto no es hiperlipidémico. En otras realizaciones, el sujeto está aparentemente sano.

En otro aspecto, el sujeto seleccionado puede haber padecido una apoplejía o infarto de miocardio.

En otra realización, el sujeto no es hipercolesterolémico. En otra realización, el sujeto no es hipertrigliceridémico.

35 En determinadas realizaciones, el sujeto tiene una enfermedad o trastorno seleccionado del grupo que consiste en diabetes *mellitus* de tipo I, diabetes *mellitus* de tipo II, enfermedad de Kawasaki, enfermedad inflamatoria crónica e hipertensión. En otra realización, el sujeto tiene niveles elevados de un marcador inflamatorio. En una realización adicional, el marcador inflamatorio es proteína C-reactiva. En otra realización adicional, el marcador inflamatorio es una citocina inflamatoria.

40 En otra realización, el inhibidor de PCSK9 reduce la formación de placas ateroscleróticas en el sujeto en al menos un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 %.

En algunas realizaciones, el sujeto tiene hipercolesterolemia familiar heterocigótica (heFH). En otras realizaciones, el sujeto tiene una forma de hipercolesterolemia que no es hipercolesterolemia familiar (noFH).

45 En determinadas realizaciones, el sujeto está en tratamiento con otro agente modificador de los lípidos antes y/o durante la administración del anticuerpo o proteína de unión a antígeno. Los agentes terapéuticos modificadores de los lípidos incluyen estatinas, inhibidores de la captación de colesterol, ezetimibe, fibratos, niacina, ácidos grasos omega-3 y resinas de ácidos biliares. Las estatinas incluyen cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina y pravastatina.

50 En determinadas realizaciones, el inhibidor de PCSK9 se proporciona en una forma farmacéutica unitaria que comprende 75 mg, 150 mg, 200 mg o 300 mg del anticuerpos o fragmento de unión a antígeno. La forma farmacéutica unitaria puede ser una jeringa llenada previamente, un autoinyector llenado previamente, un vial, un cartucho, una jeringa reutilizable o un autoinyector reutilizable; la forma farmacéutica unitaria puede estar herméticamente sellada, y puede indicar además la dosificación.

La invención también proporciona un artículo de fabricación o kit que comprende la composición farmacéutica de un inhibidor de PCSK9 para su uso de acuerdo con la invención y un recipiente y, en algunas realizaciones, también incluye instrucciones para su uso.

5 La invención también proporciona un uso del inhibidor de PCSK9 en la fabricación de un medicamento para el uso de acuerdo con la invención.

Breve descripción de los dibujos

10 Las figuras 1A-D muestran una serie de gráficos que representan el efecto de mAb316P, atorvastatina y su combinación sobre varios parámetros después de un periodo de tratamiento de 18 semanas. La figura 1A muestra el efecto sobre el promedio de colesterol total en plasma; la figura 1B muestra el efecto sobre los niveles de triglicéridos. Las figuras 1C y 1D muestran los perfiles de lipoproteína para colesterol evaluados por separación de lipoproteínas por FPLC después de 12 semanas de tratamiento para estudiar los efectos de mAb316P en solitario (figura 1C) y en combinación con atorvastatina (figura 1D). *** $P < 0,0045$ en comparación con control; ††† $P < 0,0045$ en comparación con atorvastatina; ‡‡‡ $P < 0,0045$ en comparación de 3 mg/kg de mAb316P a 10 mg/kg de mAb316P (n = 15 por grupo).

15 La figura 2A muestra un gráfico del efecto de mAb316P, atorvastatina y su combinación sobre los niveles de proteína receptora de lipoproteína de baja densidad hepática. *** $P < 0,0045$ en comparación con control; † $P < 0,05$; †† $P < 0,01$; ††† $P < 0,0045$ en comparación con atorvastatina; ‡ $P < 0,05$ en comparación con 3 mg/kg de mAb316P a 10 mg/kg de mAb316P (n = 8 por grupo). La figura 2B muestra un gráfico del efecto de mAb316P, atorvastatina y su combinación sobre los niveles de colesterol no HDL. *** $P < 0,001$ en comparación con control; # $P < 0,05$; ## $P < 0,01$; ### $P < 0,001$ en comparación con atorvastatina.

20 Las figuras 3A-F son una serie de fotos que representan el efecto de mAb316P, atorvastatina y su combinación sobre la morfología de las placas. Imágenes representativas de lesiones ateroscleróticas teñidas con hematoxilina-floxina-azafrán en una sección transversal del área de la raíz aórtica para los grupos de control (figura 3A), 3 mg/kg de mAb316P (figura 3B), 10 mg/kg de mAb316P (figura 3C), atorvastatina (figura 3D), 3 mg/kg de mAb316P + atorvastatina (figura 3E) y 10 mg/kg de mAb316P + atorvastatina (figura 3F), respectivamente, después de 18 semanas de tratamiento.

25 Las figuras 4A-D muestran una serie de gráficos que representan el efecto de mAb316P, atorvastatina y su combinación sobre el desarrollo de aterosclerosis en la raíz y el arco aórtico. Después de 18 semanas de tratamiento, se evaluaron el área de lesión total (figura 4A) y el número de lesiones (figura 4B) por sección transversal. Se evaluó la gravedad de las lesiones y se clasificó como ausencia de lesiones, lesiones suaves (de tipo I-III) y graves (de tipo IV-V) (figura 4C). La carga de placas total en el arco aórtico (figura 4D) se analizó después de tinción con oil-red O. Los datos se expresan como porcentaje del área teñida. * $P < 0,05$; *** $P < 0,0045$ en comparación con control; † $P < 0,05$; †† $P < 0,01$; ††† $P < 0,0045$ en comparación con atorvastatina; ‡ $P < 0,05$; ‡‡ $P < 0,01$; ‡‡‡ $P < 0,0045$ en comparación con 3 mg/kg de mAb316P a 10 mg/kg de mAb316P (n = 15 por grupo en el área de la raíz y n = 6-7 en el arco).

35 La figura 5 es un gráfico que representa la correlación entre el promedio de colesterol total en plasma y el área de la lesión aterosclerótica. Se representó la raíz cuadrada del área de lesión frente al promedio de colesterol total. Se realizó análisis por regresión lineal.

40 La figura 6 es una serie de fotos que representan el efecto de mAb316P, atorvastatina y su combinación sobre la composición de la lesión. Imágenes representativas de inmunotinción con Mac-3 para macrófagos, seguido de tinción con rojo sirio para colágeno y alfa actina para células de músculo liso (SMC) para el control y después de 18 semanas de tratamiento con mAb316P en solitario y en combinación con atorvastatina.

45 Las figuras 7A-C son una serie de gráficos que representan el efecto de mAb316P, atorvastatina y su combinación sobre la composición de la lesión. Se determinó el contenido de macrófagos (figura 7A izquierda) y el contenido necrótico (figura 7A derecha), incluyendo pliegues de colesterol, como factores de desestabilización, y el contenido de SMC (figura 7B izquierda) y el contenido de colágeno (figura 7B derecha) como factores de estabilización en las lesiones graves (de tipo IV-V) después de la corrección para el tamaño de la lesión. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ en comparación con control; # $P < 0,05$, ## $P < 0,01$, ### $P < 0,001$ en comparación con atorvastatina. El índice de estabilidad de las placas se calculó como la relación de los factores de estabilización respecto a los factores de desestabilización (figura 7C). * $P < 0,05$, *** $P < 0,0045$ en comparación con control; † $P < 0,05$, ††† $P < 0,0045$ en comparación con atorvastatina; ‡ $P < 0,05$ para 3 mg/kg de mAb316P en comparación con 10 mg/kg de mAb316P (n = 15 por grupo).

50 Las figuras 8A-C son una serie de gráficos que representan el efecto de mAb316P, atorvastatina y su combinación sobre marcadores de inflamación vascular. Se determinó el número de monocitos que se adhieren al endotelio (figura 8A) y el número de linfocitos T en el área de la raíz aórtica (figura 8B) por sección transversal. Además, se determinó la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) como el porcentaje del área teñida (figura 8C). Se incluyen imágenes representativas. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,0045$ en comparación con control; † $P < 0,05$, ††† $P < 0,0045$ en comparación con atorvastatina (n = 15 por grupo).

Descripción detallada

Antes de describir la presente invención, debe entenderse que esta invención no se limita a métodos particulares y condiciones experimentales descritas, ya que dichos métodos y condiciones pueden variar. También debe entenderse que la terminología usada en la presente memoria es con el fin de describir realizaciones particulares solamente, y no se pretende que sea limitante, ya que el alcance de la presente invención se limitará solamente por las reivindicaciones adjuntas.

Salvo que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que el habitualmente comprendido por un experto en la materia a la que pertenece la invención. Como se usa en la presente memoria, el término "aproximadamente", cuando se usa en referencia a un valor numérico indicado particular, significa que el valor puede variar del valor indicado en no más de un 1 %. Por ejemplo, como se usa en la presente memoria, la expresión "aproximadamente 100" incluye 99 y 101 y todos los valores intermedios (por ejemplo, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

Aunque puede usarse cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en la presente memoria en la práctica de la presente invención, ahora se describen métodos y materiales ejemplares.

15 Métodos para inhibir la aterosclerosis

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o proteína de unión a antígeno que comprende una HCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:1 y una LCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6 (inhibidor de PCSK9) para su uso en un método de reducción de la gravedad de la lesión o reducción de área de la lesión esclerótica en al menos un 2 % en un sujeto humano que tiene aterosclerosis, en la que el anticuerpo o proteína de unión a antígeno se administra por vía subcutánea al sujeto en una cantidad terapéuticamente eficaz.

Los factores de riesgo de aterosclerosis son bien conocidos en la técnica e incluyen, sin limitación, niveles altos de colesterol de lipoproteína de baja densidad (LDL), niveles bajos de colesterol de lipoproteína de alta densidad (HDL), hipertensión, diabetes *mellitus*, antecedentes familiares, género masculino, tabaquismo y colesterol alto en suero. Los métodos para evaluar estos factores de riesgo para un sujeto dado también son conocidos en la técnica.

En determinadas realizaciones, el sujeto seleccionado no es hiperlipidémico. Un sujeto "no hiperlipidémico" es un sujeto que no es un sujeto hipercolesterolémico y/o hipertrigliceridémico. Un sujeto "no hipercolesterolémico" es uno que no se ajusta a los criterios actuales establecidos para un sujeto hipercolesterolémico. Un sujeto "no hipertrigliceridémico" es uno que no se ajusta a los criterios actuales establecidos para un sujeto hipertrigliceridémico (véase, por ejemplo, Harrison's Principles of Experimental Medicine, 13.^a edición, McGraw-Hill, Inc., N.Y). Un sujeto hipercolesterolémico tiene un nivel de LDL de >160 mg/dl, o >130 mg/dl y al menos dos factores de riesgo seleccionados del grupo que consiste en género masculino, antecedentes familiares de cardiopatía coronaria prematura, tabaquismo (más de 10 por día), hipertensión, baja HDL (<35 mg/dl), diabetes *mellitus*, hiperinsulinemia, obesidad abdominal, alta lipoproteína (a) y antecedentes personales de enfermedad cerebrovascular o vasculopatía periférica oclusiva. Un sujeto hipertrigliceridémico tiene un nivel de triglicéridos (TG) de >250 mg/dl. Por tanto, un sujeto no hiperlipidémico se define como uno cuyos niveles de colesterol y triglicéridos están por debajo de los límites establecidos como se describe anteriormente tanto para los sujetos hipercolesterolémicos como para los hipertrigliceridémicos. En determinadas realizaciones, el sujeto seleccionado no es hiperlipidémico ni recibe tratamiento para hiperlipidemia.

En determinadas realizaciones, el sujeto seleccionado está aparentemente sano. "Aparentemente sano", como se usa en la presente memoria, significa individuos que no han tenido previamente un acontecimiento cardiovascular adverso grave tal como un infarto de miocardio (es decir, individuos que no están en un riesgo elevado de un segundo acontecimiento cardiovascular adverso debido a un acontecimiento cardiovascular adverso primario). Los individuos aparentemente sanos tampoco muestran de otro modo síntomas de enfermedad.

En determinadas realizaciones, el sujeto seleccionado ha padecido previamente un acontecimiento cardiovascular adverso agudo tal como un infarto de miocardio, apoplejía, angina de pecho y/o enfermedad arteriovascular periférica. En una realización, el sujeto seleccionado ha padecido previamente un acontecimiento cardiovascular adverso agudo tal como un infarto de miocardio, apoplejía, angina de pecho y/o enfermedad arteriovascular periférica, pero no es hiperlipidémico. En una realización, el sujeto seleccionado ha padecido previamente un acontecimiento cardiovascular adverso agudo tal como un infarto de miocardio, apoplejía, angina de pecho y/o enfermedad arteriovascular periférica, pero no es hiperlipidémico ni está recibiendo tratamiento para hiperlipidemia.

En determinadas realizaciones, el sujeto seleccionado tiene una enfermedad o trastorno seleccionado del grupo que consiste en diabetes *mellitus* de tipo I, diabetes *mellitus* de tipo II, enfermedad de Kawasaki, enfermedad inflamatoria crónica e hipertensión. En una realización, el sujeto seleccionado tiene una enfermedad o trastorno seleccionado del grupo que consiste en diabetes *mellitus* de tipo I, diabetes *mellitus* de tipo II, enfermedad de Kawasaki, enfermedad inflamatoria crónica e hipertensión, pero no es hiperlipidémico. En una realización, el sujeto seleccionado tiene una enfermedad o trastorno seleccionado del grupo que consiste en diabetes *mellitus* de tipo I, diabetes *mellitus*

diabetes de tipo II, enfermedad de Kawasaki, enfermedad inflamatoria crónica e hipertensión, pero no es hiperlipidémico ni está recibiendo tratamiento para hiperlipidemia.

En determinadas realizaciones, el sujeto seleccionado tiene niveles elevados de un marcador inflamatorio. En una realización, el sujeto seleccionado tiene niveles elevados de un marcador inflamatorio, pero no es hiperlipidémico. Puede utilizarse cualquier marcador de inflamación sistémica para los fines de la presente invención. Los marcadores inflamatorios adecuados incluyen, sin limitación, proteína C-reactiva (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos número 7.964.614), citocinas (por ejemplo, IL-6, IL-8 y/o IL-17), y moléculas de adhesión celular (por ejemplo, ICAM-1, ICAM-3, BL-CAM, LFA-2, VCAM-1, NCAM y PECAM).

El nivel de un marcador inflamatorio puede obtenerse mediante cualquier ensayo reconocido en la técnica. Típicamente, el nivel se determina midiendo el nivel del marcador en un líquido corporal, por ejemplo, sangre, linfa, saliva, orina y similares. El nivel puede determinarse por ELISA, o inmunoensayos u otras técnicas convencionales para determinar la presencia del marcador. Para determinar si los niveles del marcador inflamatorio están elevados, el nivel del marcador medido en un sujeto puede compararse con un control adecuado (por ejemplo, un valor predeterminado y/o un valor obtenido de un sujeto sano coincidente).

La composición farmacéutica que comprende el inhibidor de PCSK9 para la fabricación de un medicamento para cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria.

Inhibidores de PCSK9

Un "inhibidor de PCSK9" es cualquier agente que se une a o interactúa con PCSK9 humana e inhibe la función biológica normal de PCSK9 *in vitro* o *in vivo*. Ejemplos no limitantes de categorías de inhibidores de PCSK9 incluyen antagonistas micromoleculares de PCSK9, moléculas antagonistas de ácido nucleico (por ejemplo, moléculas de iARN), antagonistas de PCSK9 basados en péptidos (por ejemplo, moléculas de "pepticuerpo"), y anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos que se unen específicamente a PCSK9 humana. El inhibidor de PCSK9 de la invención es un anticuerpos o proteína de unión a antígeno que comprende una HCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:1 y una LCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6. En lo siguiente, los inhibidores de PCSK9 se describen también más en general.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "proteína convertasa subtilisina/kexina de tipo 9" o "PCSK9" se refiere a PCSK9 que tiene la secuencia de ácido nucleico mostrada en SEQ ID NO:197 y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:198, o un fragmento biológicamente activo de la misma.

En determinadas realizaciones, la administración del inhibidor de PCSK9 reduce la formación de placas ateroscleróticas en el sujeto (por ejemplo, un sujeto humano) en al menos un 10 % (por ejemplo, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 100 %) con respecto a la formación de placas ateroscleróticas en un sujeto sin tratar.

Los inhibidores de PCSK9 incluyen un anticuerpo o proteína de unión a antígeno que se une específicamente a PCSK9. Como se usa en la presente memoria, el término "anticuerpo" se refiere a moléculas de inmunoglobulina que comprende cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como multímeros de las mismas (por ejemplo, IgM). Cada cadena pesada comprende una región variable de la cadena pesada (abreviada en la presente memoria como HCVR o V_H) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada comprende tres dominios, C_{H1} , C_{H2} y C_{H3} . Cada cadena ligera comprende una región variable de la cadena ligera (abreviada en la presente memoria como LCVR o V_L) y una región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena ligera comprende un dominio (C_{L1}). Las regiones V_H y V_L se pueden subdividir además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones flanqueantes (FR). Cada V_H y V_L comprende tres CDR y cuatro FR dispuestas desde el extremo amínico hasta el extremo carboxílico en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. En diferentes realizaciones de la invención, las FR del anticuerpo anti-PCSK9 (o parte de unión a antígeno del mismo) pueden ser idénticas a las secuencias de la línea germinal humana, o pueden modificarse de forma natural o artificial. Una secuencia consenso de aminoácidos puede definirse basándose en un análisis de lado a lado de dos o más CDR.

El término "anticuerpo", como se usa en la presente memoria, también incluye fragmentos de unión a antígeno de moléculas de anticuerpo completas y proteínas de unión a antígeno. Las expresiones "parte de unión a antígeno" de un anticuerpo, "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo, "proteína de unión a antígeno" y similares, como se usan en la presente memoria, incluyen cualquier polipéptido o glucoproteína de origen natural, obtenible enzimáticamente, sintética o genomanipulada que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. Los fragmentos de unión a antígeno de un anticuerpo pueden derivar, por ejemplo, de moléculas de anticuerpo completas usando cualquier técnica convencional adecuada tal como digestión proteolítica o técnicas de genomanipulación recombinantes que implican la manipulación y expresión de ADN que codifica dominios variables y opcionalmente constantes de anticuerpo. Dicho ADN es conocido y/o está fácilmente disponible en, por ejemplo, fuentes comerciales, colecciones de ADN (incluyendo, por ejemplo, colecciones de fagos-anticuerpos), o puede sintetizarse. El ADN puede secuenciarse y manipularse químicamente o usando técnicas de biología molecular, por

ejemplo, para disponer uno o más dominios variables y/o constantes en una configuración adecuada, o para introducir codones, crear residuos de cisteína, modificar, añadir o eliminar aminoácidos, etc.

Ejemplos no limitantes de fragmentos de unión a antígeno o proteínas de unión a antígeno incluyen: (i) fragmentos Fab; (ii) fragmentos F(ab')₂; (iii) fragmentos Fd; (iv) fragmentos Fv; (v) moléculas Fv monocatenarias (scFv); (vi) fragmentos dAb; y (vii) unidades de reconocimiento mínimas que consisten en los residuos aminoácidos que imitan la región hipervariable de un anticuerpo (por ejemplo, una región determinante de complementariedad (CDR) aislada tal como un péptido CDR3), o un péptido FR3-CDR3-FR4 restringido. Otras moléculas manipuladas, tales como anticuerpos específicos de dominio, anticuerpos de un solo dominio, anticuerpos de dominio eliminado, anticuerpos quiméricos, anticuerpos de CDR injertada, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, nanocuerpos (por ejemplo, nanocuerpos monovalentes, nanocuerpos bivalentes, etc.), productos inmunofarmacéuticos modulares pequeños (SMIP) y dominios IgNAR variables de tiburón, también se abarcan dentro de las expresiones "fragmento de unión a antígeno" y "proteínas de unión a antígeno" como se usan en la presente memoria.

Un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo típicamente comprenderá al menos un dominio variable. El dominio variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y en general comprenderá al menos una CDR que está adyacente a o en el mismo marco con una o más secuencias flanqueantes. En fragmentos de unión a antígeno que tienen un dominio V_H asociado con un dominio V_L, los dominios V_H y V_L pueden situarse relativamente entre sí en cualquier disposición adecuada. Por ejemplo, la región variable puede ser dimérica y contener dímeros V_H-V_H, V_H-V_L o V_L-V_L. Como alternativa, el fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede contener un dominio V_H o V_L monomérico.

En determinadas realizaciones, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede contener al menos un dominio variable unido covalentemente a al menos un dominio constante. Configuraciones ejemplares no limitantes de dominios variables y constantes que pueden encontrarse dentro de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la presente invención incluyen: (i) V_H-C_H1; (ii) V_H-C_H2; (iii) V_H-C_H3; (iv) V_H-C_H1-C_H2; (v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3; (vi) V_H-C_H2-C_H3; (vii) V_H-C_L; (viii) V_L-C_H1; (ix) V_L-C_H2; (x) V_L-C_H3; (xi) V_L-C_H1-C_H2; (xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3; (xiii) V_L-C_H2-C_H3; y (xiv) V_L-C_L. En cualquier configuración de dominios variables y constantes, incluyendo cualquiera de las configuraciones ejemplares enumeradas anteriormente, los dominios variables y constantes pueden unirse directamente entre sí o pueden unirse mediante una región de bisagra completa o parcial o región conectora. Una región de bisagra puede consistir en al menos 2 (por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 o más) aminoácidos que dan como resultado un enlace flexible o semiflexible entre dominios variables y/o constantes adyacentes en una sola molécula polipeptídica. Además, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la presente invención puede comprender un homodímero o heterodímero (u otro multímero) de cualquiera de las configuraciones de dominio variable y constante enumeradas anteriormente en asociación no covalente entre sí y/o con uno o más dominios V_H o V_L monoméricos (por ejemplo, por uno o más enlaces disulfuro).

Como con las moléculas de anticuerpo completas, los fragmentos de unión a antígeno pueden ser mono-específicos o multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos). Un fragmento de unión a antígeno multiespecífico de un anticuerpo típicamente comprenderá al menos dos dominios variables diferentes, en el que cada dominio variable puede unirse específicamente a un antígeno separado o a un epítipo diferente en el mismo antígeno. Cualquier formato de anticuerpo multiespecífico, incluyendo los formatos de anticuerpo biespecífico ejemplares divulgados en la presente memoria, puede adaptarse para su uso en el contexto de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la presente invención usando técnicas rutinarias disponibles en la técnica.

La región constante de un anticuerpo es importante en la capacidad de un anticuerpo de fijar el complemento y mediar la citotoxicidad dependiente de células. Por tanto, el isotipo de un anticuerpo puede seleccionarse basándose en si es deseable que el anticuerpo medie citotoxicidad.

La expresión "anticuerpo humano", como se usa en la presente memoria, pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Los anticuerpos humanos de la invención, no obstante, pueden incluir residuos aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica de sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en las CDR y en particular CDR3. Sin embargo, no se pretende que la expresión "anticuerpo humano", como se usa en la presente memoria, incluya anticuerpos en los que se han injertado secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como un ratón, en secuencias flanqueantes humanas.

Se pretende que la expresión "anticuerpo humano recombinante", como se usa en la presente memoria, incluya todos los anticuerpos humanos que se preparan, expresan, crean o aíslan por medios recombinantes, tales como anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante transfectado en una célula hospedadora (descrita adicionalmente a continuación), anticuerpos aislados de una colección recombinante, combinatoria de anticuerpos humanos (descrita adicionalmente a continuación), anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico para genes de inmunoglobulina humana (véase, por ejemplo, Taylor *et al.* (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique empalme de secuencias génicas de inmunoglobulina humana con otras secuencias de ADN. Dichos anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la

línea germinal humana. En determinadas realizaciones, sin embargo, dichos anticuerpos humanos recombinantes se someten a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se usa un animal transgénico para secuencias de Ig humana, mutagénesis somática *in vivo*) y, por tanto, las secuencias de aminoácidos de las regiones V_H y V_L de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, aunque derivan de y están relacionadas con las secuencias de V_H y V_L de la línea germinal, no pueden existir de forma natural dentro del repertorio de anticuerpos de la línea germinal humana *in vivo*.

Los anticuerpos humanos pueden existir en dos formas que están asociadas con la heterogeneidad de la bisagra. En una forma, una molécula de inmunoglobulina comprende una construcción de cuatro cadenas estable de aproximadamente 150-160 kDa en que los dímeros se mantienen juntos mediante un enlace disulfuro de la cadena pesada intercatenario. En una segunda forma, los dímeros no se unen mediante enlaces disulfuro intercatenarios y se forma una molécula de aproximadamente 75-80 kDa compuesta de una cadena ligera y pesada acopladas covalentemente (semianticuerpo). Estas formas han sido extremadamente difíciles de separar, incluso después de purificación por afinidad.

La frecuencia de aparición de la segunda forma en diversos isotipos de IgG intacta se debe a, aunque sin limitación, diferencias estructurales asociadas con el isotipo de la región de bisagra del anticuerpo. Una sustitución de un solo aminoácido en la región de bisagra de la bisagra de IgG4 humana puede reducir significativamente la aparición de la segunda forma (véase, por ejemplo, Angal *et al.* (1993) *Molecular Immunology* 30:105) hasta niveles típicamente observados usando una bisagra de IgG1 humana. La presente invención abarca anticuerpos que tienen una o más mutaciones en la región de bisagra, CH2 o CH3, que pueden ser deseables, por ejemplo, en producción, para mejorar el rendimiento de la forma de anticuerpo deseada.

Un "anticuerpo aislado", como se usa en la presente memoria, significa un anticuerpo que se ha identificado y separado y/o recuperado de al menos un componente de su entorno natural. Por ejemplo, un anticuerpo que se ha separado o extraído de al menos un componente de un organismo, o de un tejido o célula en que existe en anticuerpo de forma natural o se produce de forma natural, es un "anticuerpo aislado" para los fines de la presente invención. Un anticuerpo aislado también incluye un anticuerpo *in situ* dentro de una célula recombinante. Los anticuerpos aislados son anticuerpos que se han sometido a al menos una etapa de purificación o aislamiento. De acuerdo con determinadas realizaciones, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular y/o productos químicos.

La expresión "se une específicamente" o similares, significa que un anticuerpo o proteína de unión a antígeno forma un complejo con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. Los métodos para determinar si un anticuerpo se une específicamente a un antígeno son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, diálisis en equilibrio, resonancia de plasmones superficiales y similares. Por ejemplo, un anticuerpo que "se une específicamente" a PCSK9, como se usa en el contexto de la presente invención, incluye anticuerpos que se unen a PCSK9 o parte de los mismos con una K_D de menos de aproximadamente 1000 nM, menos de aproximadamente 500 nM, menos de aproximadamente 300 nM, menos de aproximadamente 200 nM, menos de aproximadamente 100 nM, menos de aproximadamente 90 nM, menos de aproximadamente 80 nM, menos de aproximadamente 70 nM, menos de aproximadamente 60 nM, menos de aproximadamente 50 nM, menos de aproximadamente 40 nM, menos de aproximadamente 30 nM, menos de aproximadamente 20 nM, menos de aproximadamente 10 nM, menos de aproximadamente 5 nM, menos de aproximadamente 4 nM, menos de aproximadamente 3 nM, menos de aproximadamente 2 nM, menos de aproximadamente 1 nM o menos de aproximadamente 0,5 nM, medida en un ensayo de resonancia de plasmones superficiales. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a PCSK9 humana, sin embargo, puede tener reactividad cruzada con otros antígenos, tal como moléculas de PCSK9 de otra especie (no humana).

Se exponen inhibidores de PCSK9 ejemplares en la presente memoria e incluyen, por ejemplo, inhibidores descritos en las publicaciones de solicitud de patente de Estados Unidos n.º US20130115223, US20130071405, US20130064834, US20130064825, US20120122954, US20120015435, US20110313024, US 20110015252, US20110230542, US20110009628 y el número de serie de Estados Unidos 61/682.349. Los inhibidores de PCSK9 incluyen un anticuerpo, incluyendo un anticuerpo que tiene secuencias VH/VL de Ab "LGT209" como se describe en la publicación internacional n.º WO2011/072263; un anticuerpo que tiene secuencias VH/VL de Ab "L1 L3" como se describe en la publicación internacional n.º WO2010/029513; un anticuerpo que tiene secuencias VH/VL de Ab "5L1721H23_6L3" como se describe en la publicación internacional n.º WO2011/111007; un anticuerpo que tiene secuencias VH/VL de Ab "5L1721 H23_6L3H3" como se describe en la publicación internacional n.º WO2011/111007; un anticuerpo que tiene secuencias VH/VL de Ab "31H4" como se describe en la publicación internacional n.º WO2009/026558; un anticuerpo que tiene secuencias VH/VL de Ab "1B20" como se describe en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º US 2009/0232795; un anticuerpo que tiene secuencias VH/VL de Ab "21B12" descritas en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º US 2009/0142352; un anticuerpo que tiene secuencias VH/VL de Ab "508.20.28" como se describe en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º US 2012/0195910; o un anticuerpo que tiene secuencias VH/VL de Ab "508.20.33" como se describe en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º US 2012/0195910.

Los anticuerpos anti-PCSK9 pueden comprender una o más sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácidos en las regiones flanqueantes y/o CDR de los dominios variables de la cadena pesada y ligera en comparación con las secuencias de la línea germinal correspondientes de las que se obtuvieron los anticuerpos. Dichas mutaciones pueden averiguarse fácilmente comparando las secuencias de aminoácidos divulgadas en la

presente memoria con secuencias de la línea germinal disponibles en, por ejemplo, bases de datos públicas de secuencias de anticuerpos. Hay métodos que implican el uso de anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que derivan de cualquiera de las secuencias de aminoácidos divulgadas en la presente memoria, en las que uno o más aminoácidos dentro de una o más regiones flanqueantes y/o CDR se mutan en el uno o más residuos correspondientes de la secuencia de la línea germinal de la que se obtuvo el anticuerpo, o en el uno o más residuos correspondientes de otra secuencia de la línea germinal humana, o en una sustitución conservativa de aminoácido del uno o más residuos de la línea germinal correspondiente (dichos cambios de secuencia se denominan en la presente memoria colectivamente "mutaciones de la línea germinal"). Un experto en la materia, partiendo de las secuencias de la región variable de la cadena pesada y ligera divulgadas en la presente memoria, puede producir fácilmente numerosos anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno que comprenden una o más mutaciones individuales de la línea germinal o combinaciones de las mismas. Todos los residuos flanqueantes y/o CDR dentro de los dominios V_H y/o V_L pueden retromutarse en los residuos encontrados en la secuencia original de la línea germinal de la que se obtuvo el anticuerpo. Además, solamente determinados residuos pueden retromutarse en la secuencia original de la línea germinal, por ejemplo, solamente los residuos mutados encontrados dentro de los primeros 8 aminoácidos de FR1 o dentro de los últimos 8 aminoácidos de FR4, o solamente los residuos mutados encontrados dentro de CDR1, CDR2 o CDR3. Además, uno o más de los residuos flanqueantes y/o CDR pueden mutarse en el uno o más residuos correspondientes de una secuencia diferente de la línea germinal (es decir, una secuencia de la línea germinal que es diferente de la secuencia de la línea germinal de la que se obtuvo originalmente el anticuerpo). Además, los anticuerpos pueden contener cualquier combinación de dos o más mutaciones de la línea germinal dentro de las regiones flanqueantes y/o CDR, por ejemplo, en los que determinados residuos individuales se mutan en el residuo correspondiente de una particular de la línea germinal, mientras que otros determinados residuos que difieren de la secuencia original de la línea germinal se mantienen o se mutan en el residuo correspondiente de una secuencia diferente de la línea germinal. Una vez obtenidos, los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno que contienen una o más mutaciones de la línea germinal pueden ensayarse fácilmente para una o más propiedades deseadas, tales como especificidad de unión mejorada, afinidad de unión aumentada, propiedades biológicas antagonistas o agonistas mejoradas o potenciadas (según pueda ser el caso), inmunogenia reducida, etc. El uso de anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno obtenidos de esta manera general está incluido dentro de la presente invención.

Los anticuerpos anti-PCSK9 pueden comprender variantes de cualquiera de las secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR divulgadas en la presente memoria, que tienen una o más sustituciones conservativas. Por ejemplo, anticuerpos anti-PCSK9 que tienen secuencias de aminoácidos de HCVR; LCVR; CDR; HCVR y LCVR; HCVR y CDR; LCVR y CDR; o HCVR, LCVR y CDR con, por ejemplo, 10 o menos, 9 o menos, 8 o menos, 7 o menos, 6 o menos, 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos, 2 o menos, o 1 sustitución conservativa de aminoácido con respecto a cualquiera de las secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR divulgadas en la presente memoria. Las sustituciones pueden estar en secuencias de aminoácidos de CDR, por ejemplo, CDR1, CDR2 y/o CDR3. Específicamente, las sustituciones pueden estar en las secuencias de aminoácidos de CDR3.

La expresión "resonancia de plasmones superficiales", como se usa en la presente memoria, se refiere a un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones en tiempo real mediante la detección de alteraciones en las concentraciones de proteína dentro de una matriz de biosensor, por ejemplo, usando el sistema BIAcore™ (Biacore Life Sciences division de GE Healthcare, Piscataway, NJ).

Se pretende que el término "K_d", como se usa en la presente memoria, se refiera a la constante de disociación en equilibrio de una interacción de anticuerpo-antígeno particular.

El término "epítipo" se refiere a un determinante antigénico que interactúa con un sitio de unión a antígeno específico en la región variable de una molécula de anticuerpo conocido como parátipo. Un solo antígeno puede tener más de un epítipo. Por tanto, diferentes anticuerpos pueden unirse a diferentes zonas en un antígeno y pueden tener diferentes efectos biológicos. Los epítipos pueden ser conformacionales o lineales. Un epítipo conformacional se produce por aminoácidos espacialmente yuxtapuestos de diferentes segmentos de la cadena polipeptídica lineal. Un epítipo lineal es uno producido por residuos aminoácidos adyacentes en una cadena polipeptídica. En determinada circunstancia, un epítipo puede incluir restos de sacáridos, grupos fosforilo o grupos sulfonilo en el antígeno.

El anticuerpo anti-PCSK9 puede tener características de unión dependientes de pH. Como se usa en la presente memoria, la expresión "unión dependiente de pH" significa que el anticuerpo o proteína de unión a antígeno muestra "unión reducida a PCSK9 a pH ácido en comparación con pH neutro" (con los fines de la presente divulgación, ambas expresiones pueden usarse indistintamente). Por ejemplo, anticuerpos "con características de unión dependientes de pH" incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a PCSK9 con mayor afinidad a pH neutro que a pH ácido. Por ejemplo, los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno se unen a PCSK9 con afinidad al menos 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 o más veces mayor a pH neutro que a pH ácido.

Los anticuerpos anti-PCSK9 con características de unión dependientes de pH pueden tener una o más variaciones aminoacídicas con respecto al anticuerpo anti-PCSK9 original. Por ejemplo, un anticuerpo anti-PCSK9 con características de unión dependientes de pH puede contener una o más sustituciones o inserciones de histidina, por ejemplo, en una o más CDR de un anticuerpos anti-PCSK9 original. Por tanto, se divulgan métodos que comprenden administrar un anticuerpo anti-PCSK9 que comprende secuencias de aminoácidos de CDR (por ejemplo, CDR de la

- cadena pesada y ligera) que son idénticas a las secuencias de aminoácidos de CDR de un anticuerpo anti-PCSK9 original, excepto por la sustitución de uno o más aminoácidos de una o más CDR del anticuerpo original con un residuo de histidina. Los anticuerpos anti-PCSK9 con unión dependiente de pH pueden tener, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o más sustituciones de histidina, dentro de una sola CDR de un anticuerpo original o distribuidas por múltiples (por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6) CDR de un anticuerpo anti-PCSK9 original. Por ejemplo, los anticuerpos anti-PCSK9 pueden tener unión dependiente de pH, que comprenden una o más sustituciones de histidina en HCDR1, una o más sustituciones de histidina en HCDR2, una o más sustituciones de histidina en HCDR3, una o más sustituciones de histidina en LCDR1, una o más sustituciones de histidina en LCDR2 y/o una o más sustituciones de histidina en LCDR3, de un anticuerpo anti-PCSK9 original.
- 5
- 10 Como se usa en la presente memoria, la expresión "pH ácido" significa un pH de 6,0 o menos (por ejemplo, menos de aproximadamente 6,0, menos de aproximadamente 5,5, menos de aproximadamente 5,0, etc.). La expresión "pH ácido" incluye valores de pH de aproximadamente 6,0, 5,95, 5,90, 5,85, 5,8, 5,75, 5,7, 5,65, 5,6, 5,55, 5,5, 5,45, 5,4, 5,35, 5,3, 5,25, 5,2, 5,15, 5,1, 5,05, 5,0 o menos. Como se usa en la presente memoria, la expresión "pH neutro" significa un pH de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 7,4. La expresión "pH neutro" incluye valores de pH de aproximadamente 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 y 7,4.
- 15

Preparación de anticuerpos humanos

Los métodos para generar anticuerpos humanos en ratones transgénicos son conocidos en la técnica. Cualquiera de dichos métodos puede usarse para preparar anticuerpos humanos que se unen específicamente a PCSK9 humana.

- Usando la tecnología VELOCIMMUNE™ (véase, por ejemplo, el documento US 6.596.541, Regeneron Pharmaceuticals) o cualquier otro método conocido para generar anticuerpos monoclonales, se aíslan inicialmente anticuerpos quiméricos de alta afinidad contra PCSK9, que tienen una región variable humana y una región constante de ratón. La tecnología VELOCIMMUNE® implica la generación de un ratón transgénico que tiene un genoma que comprende regiones variables de la cadena pesada y ligera humana unidas de forma funcional a locus de la región constante de ratón endógena, de modo que el ratón produce un anticuerpo que comprende una región variable humana y una región constante de ratón en respuesta a estimulación antigénica. El ADN que codifica las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo se aíslan y unen de forma funcional a ADN que codifica las regiones constantes de las cadenas pesadas y ligeras humanas. El ADN entonces se expresa en una célula que puede expresar el anticuerpo completamente humano.
- 20
- 25

- En general, un ratón VELOCIMMUNE® se expone al antígeno de interés, y se recuperan las células linfáticas (tales como linfocitos B) de los ratones que expresan anticuerpos. Las células linfáticas pueden fusionarse con una línea celular de mieloma para preparar líneas celulares de hibridoma inmortales, y dichas líneas celulares de hibridoma se criban y seleccionan para identificar líneas celulares de hibridoma que producen anticuerpos específicos para el antígeno de interés. El ADN que codifica las regiones variables de la cadena pesada y la cadena ligera pueden aislarse y unirse a regiones constantes isotópicas deseables de la cadena pesada y la cadena ligera. Dicha proteína de anticuerpo puede producirse en una célula, tal como una célula CHO. Como alternativa, el ADN que codifica los anticuerpos quiméricos específicos de antígeno o los dominios variables de las cadenas ligeras y pesadas pueden aislarse directamente de linfocitos específicos de antígeno.
- 30
- 35

- Inicialmente, se aíslan anticuerpos quiméricos de alta afinidad que tienen una región variable humana y una región constante de ratón. Los anticuerpos se caracterizan y seleccionan para características deseables, incluyendo afinidad, selectividad, epítipo, etc., usando procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la materia. Las regiones constantes de ratón se remplazan con una región constante humana deseada para generar el anticuerpo completamente humano de la invención, por ejemplo, IgG1 o IgG4 de tipo silvestre o modificada. Mientras que la región constante seleccionada puede variar de acuerdo con el uso específico, las características de unión a antígeno de alta afinidad y de especificidad de diana residen en la región variable.
- 40

- En general, los anticuerpos que pueden usarse en los métodos de la presente invención tienen altas afinidades, como se describe anteriormente, cuando se miden por unión al antígeno inmovilizado en fase sólida o en fase de solución. Las regiones constantes de ratón se remplazan con regiones constantes humanas deseadas para generar los anticuerpos completamente humanos de la invención. Mientras que la región constante seleccionada puede variar de acuerdo con el uso específico, las características de unión a antígeno de alta afinidad y de especificidad de diana residen en la región variable.
- 45
- 50

- Ejemplos específicos de anticuerpos humanos o fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos que se unen específicamente a PCSK9 incluyen cualquier anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que comprende las tres CDR de la cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de la cadena pesada (HCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:1 y 11, o una secuencia sustancialmente similar de la misma que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia. Como alternativa, ejemplos específicos de anticuerpos humanos o fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos que se unen específicamente a PCSK9 incluyen cualquier anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que comprende las tres CDR de la cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de la cadena pesada (HCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos
- 55

5 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:37, 45, 53, 61, 69, 77, 85, 93, 101, 109, 117, 125, 133, 141, 149, 157, 165, 173, 181, y 189, o una secuencia sustancialmente similar de la misma que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno puede comprender las tres CDR de la cadena ligera (LCVR1, LCVR2, LCVR3) contenidas dentro de una región variable de la cadena ligera (LCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que
 10 consiste en SEQ ID NO:6 y 15, o una secuencia sustancialmente similar de la misma que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia. Como alternativa, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno puede comprender las tres CDR de la cadena ligera (LCVR1, LCVR2, LCVR3) contenidas dentro de una región variable de la cadena ligera (LCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos
 15 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 97, 105, 113, 121, 129, 137, 145, 153, 161, 169, 177, 185, y 193, o una secuencia sustancialmente similar de la misma que tiene al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia.

15 La identidad de secuencia entre dos secuencias de aminoácidos se determina sobre toda la longitud de la secuencia de aminoácidos de referencia, es decir, la secuencia de aminoácidos identificada con una SEQ ID NO, usando la mejor alineación de secuencias y/o sobre la región de la mejor alineación de secuencias entre las dos secuencias de aminoácidos, en la que la mejor alineación de secuencias puede obtenerse con herramientas conocidas de la técnica, por ejemplo, Align, usando ajustes convencionales, preferiblemente EMBOSS::needle, matriz: Blosum62, abertura de hueco 10,0, extensión de hueco 0,5.

20 De acuerdo con la presente invención, el anticuerpo o proteína de unión a antígeno comprende las seis CDR (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3) de los pares de secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada y ligera (HCVR/LCVR) de SEQ ID NO:1/6.

Específicamente, el anticuerpo anti-PCSK9, o proteína de unión a antígeno, que puede usarse en los métodos de la presente invención tiene las secuencias de aminoácidos de HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3 seleccionadas de SEQ ID NO: 2/3/4/7/8/10 (mAb316P).

25 Más específicamente, el anticuerpo o proteína de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos de HCVR de SEQ ID NO:1 y una secuencia de aminoácidos de LCVR de SEQ ID NO:6.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo o proteína de unión a antígeno muestra una o más de las siguientes propiedades cuando se administra por inyección subcutánea semanalmente a un ratón APOE*3Leiden.CETP:

30 a. reduce los niveles de colesterol total con respecto a controles sin tratar en aproximadamente un 37 % cuando se administra a 3 mg/kg;

b. reduce los niveles de colesterol total con respecto a controles sin tratar en aproximadamente un 46 % cuando se administra a 10 mg/kg;

c. reduce los niveles de colesterol total con respecto a controles sin tratar en aproximadamente un 48 % cuando se administra a 3 mg/kg en combinación con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina;

35 d. reduce los niveles de colesterol total con respecto a controles sin tratar en aproximadamente un 58 % cuando se administra a 10 mg/kg en combinación con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina;

e. reduce los niveles de colesterol total en aproximadamente un 36 % cuando se administra a 3 mg/kg en combinación con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina, con respecto a tratamiento con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina en solitario;

40 f. reduce los niveles de colesterol total en aproximadamente un 48 % cuando se administra a 10 mg/kg en combinación con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina, con respecto a tratamiento con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina en solitario;

g. reduce los niveles de triglicéridos con respecto a controles sin tratar en aproximadamente un 33 % cuando se administra a 3 mg/kg;

h. reduce los niveles de triglicéridos con respecto a controles sin tratar en aproximadamente un 36 % cuando se administra a 10 mg/kg;

45 i. reduce los niveles de triglicéridos en aproximadamente un 40 % cuando se administra a 3 mg/kg en combinación con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina, con respecto a tratamiento con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina;

j. reduce los niveles de triglicéridos en aproximadamente un 51 % cuando se administra a 10 mg/kg en combinación con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina, con respecto a tratamiento con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina en solitario;

50 k. aumenta la expresión de LDLR hepático con respecto a controles sin tratar en aproximadamente un 88 % cuando se administra a 3 mg/kg;

l. aumenta la expresión de LDLR hepático con respecto a controles sin tratar en aproximadamente un 178 % cuando se administra a 10 mg/kg;

- m. aumenta la expresión de LDLR hepático en aproximadamente un 71 % cuando se administra a 3 mg/kg en combinación con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina, con respecto a tratamiento con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina en solitario;
- 5 n. aumenta la expresión de LDLR hepático en aproximadamente un 140 % cuando se administra a 10 mg/kg en combinación con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina, con respecto a tratamiento con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina en solitario;
- o. disminuye el tamaño de la lesión aterosclerótica con respecto a controles sin tratar en aproximadamente un 70 % cuando se administra a 3 mg/kg;
- 10 p. disminuye el tamaño de la lesión aterosclerótica con respecto a controles sin tratar en aproximadamente un 87 % cuando se administra a 10 mg/kg;
- q. disminuye el tamaño de la lesión aterosclerótica con respecto a controles sin tratar en aproximadamente un 88 % cuando se administra a 3 mg/kg en combinación con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina;
- r. disminuye el tamaño de la lesión aterosclerótica con respecto a controles sin tratar en aproximadamente un 98 % cuando se administra a 10 mg/kg en combinación con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina;
- 15 s. disminuye el tamaño de la lesión aterosclerótica relativa en aproximadamente un 82 % cuando se administra a 3 mg/kg en combinación con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina, con respecto a tratamiento con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina en solitario;
- t. disminuye el tamaño de la lesión aterosclerótica relativa en aproximadamente un 97 % cuando se administra a 10 mg/kg en combinación con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina, con respecto a tratamiento con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina en solitario;
- 20 u. reduce los niveles de triglicéridos en aproximadamente un 72 % cuando se administra a 3 mg/kg, con respecto a tratamiento con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina en solitario;
- v. reduce los niveles de triglicéridos en aproximadamente un 79 % cuando se administra a 10 mg/kg, con respecto a tratamiento con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina en solitario;
- 25 w. reduce los niveles de colesterol total en aproximadamente un 22 % cuando se administra a 3 mg/kg, con respecto a tratamiento con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina en solitario;
- x. reduce los niveles de colesterol total en aproximadamente un 34 % cuando se administra a 10 mg/kg, con respecto a tratamiento con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina en solitario;
- 30 y. aumenta el porcentaje de segmentos aórticos no enfermos en aproximadamente un 236 % cuando se administra a 3 mg/kg, con respecto a control sin tratar;
- z. aumenta el porcentaje de segmentos aórticos no enfermos en aproximadamente un 549 % cuando se administra a 10 mg/kg, con respecto a control sin tratar;
- aa. aumenta el porcentaje de segmentos aórticos no enfermos en aproximadamente un 607 % cuando se administra a 3 mg/kg en combinación con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina, con respecto a control; y
- 35 bb. aumenta el porcentaje de segmentos aórticos no enfermos en aproximadamente un 1118 % cuando se administra a 3 mg/kg en combinación con 3,6 mg/kg/día de atorvastatina, con respecto a control.

Composiciones farmacéuticas y métodos de administración

De acuerdo con la presente invención, el inhibidor de PCSK9 está contenido dentro de una composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan con vehículos, excipientes y otros agentes adecuados que proporcionan transferencia, suministro, tolerancia y similares adecuados. Puede encontrarse una multitud de formulaciones apropiadas en el formulario conocido por todos los químicos farmacéuticos: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Estas formulaciones incluyen, por ejemplo, polvos, pastas, pomadas, gelatinas, ceras, aceites, lípidos, vesículas que contienen lípidos (catiónicos o aniónicos) (tales como LIPOFECTIN™), conjugados de ADN, pastas anhidras de absorción, emulsiones de aceite en agua y emulsiones de agua en aceite, emulsiones carbowax (polietilenglicoles de diversos pesos moleculares), geles semisólidos y mezclas semisólidas que contienen carbowax. Véase también Powell *et al.* "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

40

45

Se conocen diversos sistemas de suministro y pueden usarse para administrar la composición farmacéutica de la invención, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes que pueden expresar los virus mutantes, endocitosis mediada por receptor (véase, por ejemplo, Wu *et al.*, 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Métodos conocidos de administración incluyen, aunque sin limitación, vía intradérmica,

50

intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural, por inhalación y oral. Las composiciones pueden administrarse mediante cualquier vía conveniente, por ejemplo, por infusión o inyección en embolada, por absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.) y pueden administrarse junto con otros agentes biológicamente activos.

5 La composición farmacéutica de la presente invención se suministra por vía subcutánea con una aguja y jeringa convencionales. Además, dispositivos de suministro con pluma y dispositivos de suministro con autoinyector fácilmente tienen aplicaciones en el suministro de una composición farmacéutica de la presente invención. Dichos dispositivos de suministro pueden ser reutilizables o desechables, y pueden adaptarse para administrar una dosis variable o una dosis fija. Un dispositivo de suministro reutilizable en general utiliza un cartucho reemplazable que contiene una
10 composición farmacéutica. Una vez que se ha administrado toda la composición farmacéutica dentro del cartucho y el cartucho está vacío, el cartucho vacío puede descartarse fácilmente y reemplazarse con un nuevo cartucho que contiene la composición farmacéutica. El dispositivo de suministro entonces puede reutilizarse. En un dispositivo de suministro desechable, no hay cartucho reemplazable. En su lugar, el dispositivo de suministro desechable viene llenado previamente con la composición farmacéutica mantenida en un depósito dentro del dispositivo. Una vez se ha
15 vaciado el depósito de la composición farmacéutica, se descarta el dispositivo completo. Un dispositivo de suministro adaptado para dosificación variable puede incluir un mecanismo para establecer una dosis dentro de un intervalo de volúmenes de dosis (en algunos casos, el intervalo puede limitarse a un valor menor de un volumen total contenido en el cartucho). Un dispositivo de suministro adaptado para dosificación fija puede incluir un mecanismo que suministra el volumen total del cartucho cuando se acciona el dispositivo de suministro. En dichos casos, el cartucho puede ser
20 una jeringa llenada previamente.

Numerosos dispositivos de suministro tienen aplicaciones en el suministro de una composición farmacéutica de la presente invención. Ejemplos incluyen, aunque sin limitación AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, R.U.), DISETRONICTM pen (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Suiza), HUMALOG MIX 75/25¹m pen, HUMALOG™
25 pen, HUMALIN 70/30™ pen (Eli Lilly and Co., Indianápolis, IN), NOVOPENTM I, II y III (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), BDTM pen (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPENTM, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ y OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Alemania), por nombrar solamente unos pocos. Ejemplos de dispositivos de suministro con pluma desechables que tenga aplicaciones en suministro subcutáneo de una composición farmacéutica de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, el SOLOSTART™ pen (sanofi-aventis), el FLEXPEN™ (Novo Nordisk) y el KWIKPEN™ (Eli
30 Lilly), el SURECLICK™ Autoinjector (Amgen, Thousand Oaks, CA), el PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), el EPIPEN (Dey, L.P.) y el HUMIRA™ Pen (Abbott Labs, Abbott Park IL), por nombrar solamente unos pocos. En algunas realizaciones, la pluma o autoinyector reutilizable suministra una dosis fija. En otras realizaciones, la pluma o autoinyector reutilizable puede suministrar una dosis variable. En diferentes realizaciones, la pluma o autoinyector reutilizable puede suministrar una sola dosis o múltiples dosis.

35 En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica se suministra en un sistema de liberación controlada. En determinadas realizaciones, puede usarse una bomba (véase Langer, *supra*; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201), incluyendo una microbomba. En otra realización, pueden usarse materiales poliméricos; véase, Medical Applications of Controlled Release Langer y Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. En otra realización más, un sistema de liberación controlada puede colocarse en proximidad de la diana de la composición, requiriendo,
40 por tanto, solamente una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, 1984, en Medical Applications of Controlled Release, *supra*, vol. 2, pág. 115-138). Otros sistemas de liberación controlada se analizan en la revisión de Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

Las preparaciones inyectables pueden incluir formas farmacéuticas para inyecciones subcutáneas, infusiones de goteo, etc. Estas preparaciones inyectables pueden prepararse por métodos conocidos. Por ejemplo, las preparaciones inyectables pueden prepararse, por ejemplo, disolviendo, suspendiendo o emulsionando el anticuerpo o su sal descrita anteriormente en un medio acuoso estéril o un medio oleoso usado convencionalmente para inyecciones. Como medio acuoso para inyecciones, hay, por ejemplo, solución salina fisiológica, una solución isotónica que contiene glucosa y otros agentes auxiliares, etc., que pueden usarse en combinación con un agente solubilizante apropiado tal como un alcohol (por ejemplo, etanol), un polialcohol (por ejemplo, propilenglicol, polietilenglicol), un
50 tensioactivo no iónico [por ejemplo, polisorbato 80, aducto HCO-50 (polioxietileno (50 mol) de aceite de ricino hidrogenado), etc. Como medio oleoso, se emplean, por ejemplo, aceite de sésamo, aceite de soja, etc., que puede usarse en combinación con un agente solubilizante tal como benzoato de bencilo, alcohol bencilico, etc. La inyección así preparada se llena en una ampolla apropiada.

Ventajosamente, las composiciones farmacéuticas para uso parenteral descritas anteriormente se preparan en formas
55 farmacéuticas en una dosis unitaria adecuada para satisfacer una dosis de los ingredientes activos. Como se usa en la presente memoria, "forma farmacéutica unitaria" se refiere a unidades físicamente diferenciadas adecuadas como dosificaciones individuales para sujetos humanos y/o animales, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo (es decir, un inhibidor de PCSK9) calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con un diluyente, medio o vehículo farmacéutico. En algunas realizaciones, la forma farmacéutica unitaria comprende 75 mg, 150 mg, 200 mg o 300 mg del anticuerpo o proteína de unión a antígeno. Ejemplos de formas farmacéuticas unitarias adecuadas para composiciones farmacéuticas líquidas incluyen aplicadores tales como viales, jeringas, incluyendo jeringas llenadas previamente y jeringas reutilizables,
60

5 autoinyectores, incluyendo autoinyectores llenados previamente y autoinyectores reutilizables, cartuchos y ampollas; otras formas farmacéuticas unitarias adecuadas incluyen comprimidos, píldoras, cápsulas, supositorios, obleas, múltiples segregados de cualquiera de los anteriores y otras formas como se describe en la presente memoria o como se conoce en general en la técnica. La forma farmacéutica unitaria puede sellarse herméticamente. Para formas farmacéuticas unitarias que contienen la composición farmacéutica dentro de un aplicador, la cantidad del inhibidor de PCSK9 puede indicarse en el aplicador.

10 La presente invención incluye un artículo de fabricación o kit que comprende (a) una o más formas farmacéuticas unitarias que comprenden una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la presente invención, y (b) un recipiente o envase. El artículo de fabricación o kit puede comprender además (c) una etiqueta o prospecto con instrucciones para su uso. En algunas realizaciones, el artículo de fabricación puede comprender además (d) una o más formas farmacéuticas unitarias de un tratamiento modificador de los lípidos (por ejemplo, un envase alveolado de comprimidos que comprenden como ingrediente activo un inhibidor de HMG-CoA reductasa).

Pautas de dosificación y administración

15 La cantidad de inhibidor de PCSK9 (anticuerpo anti-PCSK9) administrado a un sujeto de acuerdo con la presente invención es, en general, una cantidad terapéuticamente eficaz. Como se usa en la presente memoria, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una dosis de inhibidor de PCSK9 que provoca una reducción detectable en las lesiones ateroscleróticas. Por ejemplo, "cantidad terapéuticamente eficaz" de un inhibidor de PCSK9 incluye, por ejemplo, una cantidad de inhibidor de PCSK9 que provoca una reducción de al menos un 2 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más en el área de lesión esclerótica o gravedad de la lesión cuando se administra a un paciente humano, por ejemplo, como se ilustra en los ejemplos en la presente memoria. Como alternativa, pueden usarse modelos animales para establecer si una cantidad particular de un inhibidor de PCSK9 candidato es una cantidad terapéuticamente eficaz.

25 En el caso de un anticuerpo anti-PCSK9, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser de aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 600 mg, por ejemplo, aproximadamente 0,05 mg, aproximadamente 0,1 mg, aproximadamente 1,0 mg, aproximadamente 1,5 mg, aproximadamente 2,0 mg, aproximadamente 3 mg, aproximadamente 5 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 15 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 110 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 130 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 160 mg, aproximadamente 170 mg, aproximadamente 180 mg, aproximadamente 190 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 210 mg, aproximadamente 220 mg, aproximadamente 230 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 260 mg, aproximadamente 270 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 290 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 310 mg, aproximadamente 320 mg, aproximadamente 330 mg, aproximadamente 340 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 370 mg, aproximadamente 380 mg, aproximadamente 390 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 410 mg, aproximadamente 420 mg, aproximadamente 430 mg, aproximadamente 440 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 460 mg, aproximadamente 470 mg, aproximadamente 480 mg, aproximadamente 490 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 510 mg, aproximadamente 520 mg, aproximadamente 530 mg, aproximadamente 540 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 560 mg, aproximadamente 570 mg, aproximadamente 580 mg, aproximadamente 590 mg o aproximadamente 600 mg del anticuerpo anti-PCSK9.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 se administra a un sujeto a una dosis de 75 mg. En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 se administra a un sujeto a una dosis de 150 mg. En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 se administra a un sujeto a una dosis de 300 mg.

45 La cantidad de anticuerpo anti-PCSK9 contenida dentro de las dosis individuales puede expresarse en términos de miligramos de anticuerpo por kilogramo de peso corporal del paciente (es decir, mg/kg). Por ejemplo, el anticuerpo anti-PCSK9 puede administrarse a un paciente a una dosis de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal del paciente.

50 De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, pueden administrarse múltiples dosis de un inhibidor de PCSK9 a un sujeto sobre un periodo de tiempo definido. Los métodos de acuerdo con este aspecto de la invención comprenden administrar secuencialmente a un sujeto múltiples dosis de un inhibidor de PCSK9. Como se usa en la presente memoria, "administrar secuencialmente" significa que cada dosis de inhibidor de PCSK9 se administra al sujeto en un punto diferente en el tiempo, por ejemplo, en diferentes días separados por un intervalo predeterminado (por ejemplo, horas, días, semanas o meses). La presente invención incluye métodos que comprenden administrar secuencialmente al paciente una sola dosis inicial de un inhibidor de PCSK9, seguida de una o más dosis secundarias del inhibidor de PCSK9, y opcionalmente seguidas de una o más dosis terciarias del inhibidor de PCSK9.

Las expresiones "dosis inicial", "dosis secundarias" y "dosis terciarias" se refieren a la secuencia temporal de administración del inhibidor de PCSK9. Por tanto, la "dosis inicial" es la dosis que se administra al inicio de la pauta

de tratamiento (también denominada "dosis basal"); las "dosis secundarias" son las dosis que se administran después de la dosis inicial; y las "dosis terciarias" son las dosis que se administran después de las dosis secundarias. En determinadas realizaciones, sin embargo, la cantidad de inhibidor de PCSK9 contenida en las dosis iniciales, secundarias y/o terciarias variará de una a otra (por ejemplo, ajustadas en aumento o disminución según lo apropiado) durante el ciclo de tratamiento. Las dosis iniciales, secundarias y terciarias pueden contener todas la misma cantidad de inhibidor de PCSK9.

En determinadas realizaciones, cada dosis secundaria y/o terciaria se administra de 1 a 30 (por ejemplo, 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 o más) días después de la dosis inmediatamente precedente. La expresión "la dosis inmediatamente precedente", como se usa en la presente memoria significa, en una secuencia de múltiples administraciones, la dosis de inhibidor de PCSK9 que se administra a un paciente antes de la administración de la dosis más cercana en la secuencia sin dosis intermedias.

En determinadas realizaciones, los métodos comprenden administrar a un paciente cualquier número de dosis secundarias y/o terciarias de un inhibidor de PCSK9. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, se administra solamente una sola dosis secundaria al paciente. En otras realizaciones, se administran dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis secundarias al paciente. Asimismo, en determinadas realizaciones, se administra solamente una sola dosis terciaria al paciente. En otras realizaciones, se administran dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis terciarias al paciente.

En realizaciones que implican múltiples dosis secundarias, cada dosis secundaria puede administrarse a la misma frecuencia que las otras dosis secundarias. Por ejemplo, cada dosis secundaria puede administrarse al paciente de 1 a 29 días después de la dosis inmediatamente precedente. Asimismo, en realizaciones que implican múltiples dosis terciarias, cada dosis terciaria puede administrarse a la misma frecuencia que las otras dosis terciarias. Por ejemplo, cada dosis terciaria puede administrarse al paciente de 1 a 60 días después de la dosis inmediatamente precedente. Como alternativa, la frecuencia a la que se administran las dosis secundarias y/o terciarias a un paciente puede variar sobre el transcurso de la pauta de tratamiento. La frecuencia de administración también puede ajustarse durante el ciclo de tratamiento por un médico, dependiendo de las necesidades del paciente individual después de examen clínico.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 se administra a un sujeto a una dosis inicial de aproximadamente 75 mg cada dos semanas.

En realizaciones adicionales, el anticuerpo se administra a un sujeto a una dosis inicial de aproximadamente 150 mg cada dos semanas.

En una realización, se administra una dosis inicial durante un periodo de dosificación inicial, tras el que se controla el valor de LDL-C del sujeto para determinar si la dosis inicial debe cambiarse a una dosis secundaria, midiendo el valor de LDL-C para determinar si está en o por debajo de un valor de LDL-C diana. Por ejemplo, un sujeto puede empezar el tratamiento con una dosis inicial de 75 mg del anticuerpo, con un valor de LDL-C diana de 100 miligramos por decilitro (mg/dl). Si el LDL-C del sujeto alcanza un valor de LDL-C diana al final del periodo de dosificación inicial, entonces el sujeto continúa el tratamiento con la dosis inicial, pero cambiar a una dosis secundaria si no se alcanza ese valor diana. En una realización, la dosis inicial es aproximadamente 75 mg, administrada cada dos semanas, el valor de LDL-C diana es 100 mg/dl, y la dosis secundaria, si fuera necesaria, es 150 mg cada dos semanas. Por ejemplo, se puede hacer seguimiento del sujeto en primer lugar después de aproximadamente 8 semanas de tratamiento, y si su valor de LDL-C está por encima de 100 mg/dl, el sujeto se puede valorar en aumento hasta una dosis secundaria de 150 mg, administrada cada dos semanas. La supervisión puede continuar durante todo el periodo de tratamiento. En otra realización, la dosis inicial es 75 mg de anticuerpo cada dos semanas, el valor de LDL-C diana es 70 mg/dl, y la dosis secundaria es 150 mg cada dos semanas si no se alcanza el valor de LDL-C diana.

Tratamientos previos y politerapias

El sujeto puede estar con una pauta terapéutica para el tratamiento de hipercolesterolemia y/o aterosclerosis en el momento de, o justo antes de, administración de la composición farmacéutica de la invención. Por ejemplo, a un paciente que se haya diagnosticado previamente con hipercolesterolemia y/o aterosclerosis se le puede haber prescrito y puede estar tomando una pauta terapéutica estable de otro tratamiento modificador de lípidos antes de y/o simultáneamente con la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PCSK9. En otras realizaciones, el sujeto se ha tratado previamente con un tratamiento modificador de lípidos.

Los métodos de la presente invención, de acuerdo con determinadas realizaciones, comprenden administrar como monoterapia una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PCSK9 a un sujeto, en ausencia de cualquier tratamiento modificador de lípidos simultáneo.

Los métodos de la presente invención, de acuerdo con determinadas realizaciones, también comprenden administrar una composición farmacéutica que comprende un inhibidor anti-PCSK9 a un sujeto en combinación con otro tratamiento modificador de lípidos.

Como se usa en la presente memoria, los tratamientos modificadores de lípidos incluyen, por ejemplo, (1) agentes que inducen una reducción celular de la síntesis de colesterol inhibiendo la 3-hidroxi-3-metilglutarilo (HMG)-coenzima A (CoA) reductasa, tal como una estatina (por ejemplo, cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina, pravastatina, etc.); (2) agentes que inhiben la captación de colesterol y/o las reabsorción de ácidos biliares (tal como ezetimibe); (3) agentes que aumentan el catabolismo de lipoproteínas (tal como niacina); y/o (4) activadores del factor de transcripción LXR que desempeña una función en la eliminación del colesterol, tal como 22-hidroxicolesterol. Los tratamientos modificadores de lípidos también incluyen combinaciones fijas de agentes terapéuticos tales como ezetimibe más simvastatina; una estatina con una resina biliar (por ejemplo, colestiramina, colestipol, colesevelam); niacina más una estatina (por ejemplo, niacina con lovastatina); o con otros agentes reductores de lípidos tales como éster etílico del ácido graso omega-3 (por ejemplo, omacor).

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se exponen para proporcionar a los expertos en la materia una divulgación y descripción completas de la manera en que preparar y usar los métodos y composiciones de la invención, y no se pretende que limiten el alcance de lo que los autores de la invención consideran su invención.

15 Ejemplo 1: Generación de anticuerpos humanos contra PCSK9 humana

Se generaron anticuerpos humanos anti-PCSK9 como se describe en la patente de Estados Unidos n.º 8.062.640. El inhibidor ejemplar de PCSK9 usado en el siguiente ejemplo es el anticuerpo humano anti-PCSK9 denominado "mAb316P", también conocido aquí como "alirocumab". El mAb316P tiene las siguientes características de secuencia de aminoácidos: región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende SEQ ID NO:1; dominio variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende SEQ ID NO:6; región determinante de complementariedad de la cadena pesada 1 (HCDR1) que comprende SEQ ID NO:2; HCDR2 que comprende SEQ ID NO:3; HCDR3 que comprende SEQ ID NO:4; región determinante de complementariedad de la cadena ligera 1 (LCDR1) que comprende SEQ ID NO:7; LCDR2 que comprende SEQ ID NO:8; y LCDR3 que comprende SEQ ID NO:10.

25 Ejemplo 2: Obtención de objetivos de colesterol de lipoproteína de baja densidad en pacientes con alto riesgo cardiovascular: Resultados de un estudio de población de medicina gestionada

Antecedentes: Las directrices estadounidenses apoyan los objetivos de LDL-C basados en el perfil de riesgo cardiovascular (CV) en el paciente, sin embargo, se conoce poco con respecto a patrones en el mundo real de obtención de objetivos de LDL-C dentro de afecciones de alto riesgo de CV específicas.

Métodos: Se identificaron pacientes de la base de datos OptumInsight IMPACT (una gran base de datos estadounidense de reclamaciones de múltiples pagadores) con una medición de LDL-C durante julio de 2011 a junio de 2012 y afecciones de alto riesgo de CV. La medición más reciente de LDL-C se definió como la fecha del índice y se identificaron afecciones de alto riesgo de CV jerárquicamente durante el periodo antes del índice como sigue: síndrome coronario agudo reciente (ACS, en los 6 meses antes de la fecha del índice), acontecimientos coronarios (infarto de miocardio, hospitalización por angina inestable, revascularización coronaria), apoplejía y vasculopatía periférica (PVD).

Resultados: En total, 110.739 pacientes cumplieron el criterio de inclusión. La mediana (IQR) de edad fue 59 (53 a 65) años, un 53,7 % eran hombres, y la mediana (IQR) de LDL-C fue 116 (92 a 143) mg/dl. Desde la fecha del índice, un 2,7 % tenía ACS reciente, mientras que un 42,1 %, 9,2 % y 46,0 % tenía evidencia de acontecimientos coronarios, apoplejía y PVD, respectivamente. La siguiente tabla (tabla 1) representa un resumen de la distribución de los pacientes por los niveles de LDL-C desde la fecha del índice para diferentes afecciones de alto riesgo de CV.

Tabla 1: Desglose de los pacientes por el nivel de LDL-C (mg/dl) y afección de riesgo.

Afección de alto riesgo de CV (% de pacientes; N)	% de pacientes por nivel de LDL-C (mg/dl)					
	<70	≥70 a <100	≥100 a <130	≥130 a <160	≥160	Cualquiera
ACS reciente (2,7 %; 2.966)	17,2 %	27,4 %	26,7 %	16,5 %	12,1 %	100,0 %
Acontecimientos coronarios (42,1 %; 46.616)	9,5 %	25,1 %	30,3 %	21,4 %	13,8 %	100,0 %
Apoplejía (9,2 %; 10.240)	8,0 %	23,8 %	30,4 %	23,5 %	14,3 %	100,0 %
PVD (46,0 %; 50.917)	6,9 %	23,0 %	31,8 %	23,8 %	14,5 %	100,0 %
Global (100 %; 110.739)	8,3 %	24,0 %	30,9 %	22,6 %	14,1 %	100,0 %

Conclusiones: En una gran cohorte contemporánea de pacientes con alto riesgo de CV, pocos consiguieron los objetivos de LDL-C de <70 mg/dl (objetivo opcional para riesgo muy alto de CV) o <100 mg/dl. Aunque conseguir el objetivo de LDL-C mejoró marginalmente en pacientes con afecciones que significaban mayor riesgo de CV, con la consecución más alta en pacientes con ACS reciente, la mayoría de estos pacientes aún estaban por encima de los objetivos de LDL-C. Estos datos muestran que hay una necesidad de esfuerzos continuados por abordar los huecos en la obtención del objetivo de LDL-C y mejorar los resultados de CV en pacientes de alto riesgo.

Ejemplo 3: Obtención de objetivo de colesterol de lipoproteína de baja densidad y tratamiento reductor de lípidos en una población de medicina gestionada de alto riesgo cardiovascular

Antecedentes: Aunque las directrices estadounidenses apoyan las estatinas como tratamiento de primera línea para reducir el LDL-C, se sabe poco con respecto a los patrones en el mundo real de la obtención del objetivo de LDL-C con estatinas y otros tratamientos reductores de lípidos (LLT).

Métodos: Se identificaron pacientes de la base de datos OptumInsight IMPACT (una gran base de datos estadounidense de reclamaciones de múltiples pagadores) con una medición de LDL-C durante julio de 2011 a junio de 2012 y afecciones de alto riesgo de CV (acontecimientos coronarios (infarto de miocardio, hospitalización por angina inestable, revascularización coronaria), apoplejía y vasculopatía periférica). Se evaluó la prescripción de LLT desde la medición de LDL-C más reciente (fecha del índice) y se clasificó como estatina de alta potencia (atorvastatina 40/80 mg, rosuvastatina 20/40 mg, simvastatina 80 mg), estatina de potencia convencional (otras estatinas), LLT sin estatina (ezetimibe, niacina, fibratos, secuestrantes de ácidos biliares) y sin LLT.

Resultados: En total, 110.739 pacientes cumplieron el criterio de inclusión. La mediana (IQR) de edad fue 59 (53 a 65) años, un 53,7 % eran hombres, y la mediana (IQR) de LDL-C fue 116 (92 a 143) mg/dl. Desde la fecha del índice, un 10,8 % estaba con estatina de alta potencia, un 26,9 % estaba con estatina de potencia convencional, un 5,3 % estaba con LLT sin estatina y un 57,0 % no estaba con ningún LLT. La siguiente tabla (tabla 2) representa un resumen de la distribución de los pacientes por los niveles de LDL-C con respecto a la fecha del índice para diferentes tipos de LLT.

Tabla 2: Desglose de los pacientes por el nivel de LDL-C (mg/dl) y tipo de LLT.

Tipo de LLT (% de pacientes; N)	% de pacientes por nivel de LDL-C (mg/dl)					
	<70	≥70 a <100	≥100 a <130	≥130 a <160	≥160	Cualquiera
Estatina de alta potencia (10,8 %; 12.014)	15,2 %	33,7 %	26,0 %	13,7 %	11,4 %	100,0 %
Estatina de potencia convencional (26,9 %; 29.734)	11,2 %	30,1 %	28,5 %	18,2 %	12,0 %	100,0 %
LLT sin estatina (5,3 %; 5.921)	12,1 %	27,6 %	29,8 %	19,0 %	11,5 %	100,0 %
Sin LLT (57,0 %; 63.070)	5,3 %	19,0 %	33,1 %	26,7 %	15,9 %	100,0 %
Global (100 %; 110.739)	8,3 %	24,0 %	30,9 %	22,6 %	14,1 %	100,0 %

Conclusiones: En esta gran población contemporánea de pacientes en alto riesgo de CV, pocos consiguieron los objetivos de LDL-C de <70 mg/dl (objetivo opcional para riesgo muy alto de CV) o <100 mg/dl. Además, muchos otros pacientes no estaban en el objetivo de LDL-C a pesar de recibir una estatina de alta potencia. Estos datos muestran que hay necesidad de esfuerzos continuados para mejorar la adherencia a LLT, así como nuevos tratamientos para mejorar la obtención del objetivo y los resultados de CV.

Ejemplo 4: Anticuerpo monoclonal contra PCSK-9, MAb316P disminuye de manera dependiente de la dosis la aterosclerosis, induce un fenotipo de placas más estable y potencia los efectos de atorvastatina en el fondo de ratones transgénicos APOE*3Leiden.CETP

La finalidad de este estudio fue investigar los efectos de dos dosificaciones de mAb316P, en solitario y en combinación con atorvastatina sobre los lípidos plasmáticos, el desarrollo de aterosclerosis y la composición de la lesión en ratones APOE*3Leiden.CETP. Este es un modelo bien establecido de hiperlipidemia y aterosclerosis con todos los rasgos característicos de disbetalipoproteinemia familiar (FD) en seres humanos, que se caracteriza por acumulación de lipoproteínas remanentes y una relación aumentada de colesterol de lipoproteína de muy baja densidad LDL (VLDL) a LDL-C. Los ratones APOE*3Leiden tienen una eliminación alterada de (V)LDL y niveles aumentados de TG, y de ese modo están imitando la lenta eliminación observada en seres humanos, en contraste con los ratones de tipo silvestre normales, que tienen una eliminación muy rápida de lipoproteínas que contienen apoB. El perfil de

lipoproteínas en ratones APOE*3Leiden.CETP refleja el de los pacientes con FD con una respuesta similar a tratamientos modificadores de lípidos, incluyendo estatinas, fibratos, niacina e inhibidores de la proteína de transferencia de éster de colesterol (CETP). Esto se ilustra mediante una reducción comparable en el colesterol en todas las subfracciones de lipoproteína que contiene apoB con tratamiento con estatina. Se elaboró la hipótesis de que mAb316P en solitario podría reducir la progresión de aterosclerosis y aumentar los efectos ateroprotectores de atorvastatina. La inhibición de la aterosclerosis por atorvastatina en ratones APOE*3Leiden.CETP se ha observado previamente.

Métodos

i) Animales

Se usaron noventa ratones transgénicos APOE*3Leiden.CETP hembra (de 9 a 13 semanas de edad), que expresaban CETP humano bajo el control de sus regiones flanqueantes naturales. Durante el estudio, los ratones se alojaron en condiciones convencionales con un ciclo de 12-horas de luz-oscuridad y tenían acceso libre a alimento y agua. Los experimentos en animales se aprobaron por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de The Netherlands Organization for Applied Research.

ii) Diseño experimental

Los ratones recibieron una dieta semisintética rica en colesterol, que contenía un 15 % (p/p) de manteca de cacao y un 0,15 % de colesterol (dieta de tipo Western [WTD]; Hope Farms, Woerden, Países Bajos) para un periodo de ejecución de 3 semanas para aumentar los niveles de colesterol total en plasma (TC) hasta -15 mmol/l. Se controló el peso corporal (BW) y la ingesta de alimento de manera regular durante el estudio. Después de hacerlos coincidir basándose en BW, TC, TG en plasma y edad, los ratones (n = 15 por grupo) recibieron una WTD en solitario o se trataron con dos dosificaciones de mAb316P (3 o 10 mg/kg) en solitario o en combinación con atorvastatina (3,6 mg/kg/d) durante 18 semanas, y se añadió un grupo con atorvastatina en solitario. Se administró MAb316P mediante inyecciones subcutáneas semanales y se añadió atorvastatina a la dieta. La dosis de atorvastatina se calculó para intentar una reducción de TC de aproximadamente un 20 % a un 30 %. Al final del periodo de tratamiento, todos los animales se sacrificaron por inhalación de CO₂. Se aislaron los hígados y los corazones para evaluar los niveles de proteína LDLR hepática, el contenido de lípidos, el desarrollo de aterosclerosis y la composición de las placas.

iii) Lípidos en plasma, análisis de lipoproteínas y medición de los niveles de MAb316P

Se aisló el plasma de la sangre recogida en recipientes recubiertos de ácido etilendiaminetetraacético (EDTA) mediante exanguinación de la vena de la cola después de ayuno de 4 horas cada 2 a 4 semanas. Se determinó TC y TG en plasma usando kits enzimáticos de acuerdo con los protocolos del fabricante (n.º cat. 1458216 y n.º cat. 1488872, respectivamente; Roche/Hitachi) y se calculó el promedio de los niveles de TC y TG en plasma. Se midieron los perfiles de lipoproteína para TC después de la separación de las lipoproteínas por cromatografía de líquidos de proteínas rápida (FPLC) después de 4, 12 y 18 semanas de tratamiento. Se midieron los niveles de MAb316P mediante ensayo de inmunoadsorción de anticuerpo humano.

iv) Niveles de proteína LDLR hepática

Se homogeneizaron tejidos hepáticos en tampón de lisis (Tris-HCl 50 mM [pH = 7,4], NaCl 150 mM, ácido desoxicólico al 0,25 %, NP-40 al 1 % [Igepal], EDTA 1 mM, cóctel de inhibidores de proteasa [completo, Roche], PMSF 1 mM, Na₃VO₄ 1 mM) y después se centrifugaron a 6500 rpm a 4 °C durante 30 minutos. Se determinó la concentración de proteína en los lisados celulares por ensayo de proteínas con ácido bicínico (Thermo Scientific) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se separaron 50 µg de lisados proteínicos por SDS-PAGE y después se transfirieron a membranas de fluoruro de polivinilideno (Millipore). Las transferencias se sometieron a anticuerpo de cabra anti-LDLR de ratón de R&D Systems y anticuerpo de conejo anticabra conjugado con peroxidasa de rábano rústico (HRP) de AbD Serotec o anticuerpo de ratón anti-α-tubulina de Sigma y anticuerpos de caballo antirratón conjugado con HRP de Cell Signaling Technologies (de acuerdo con las instrucciones del fabricante); las transferencias de revelar con West Femto Super Signal ECL (Thermo Scientific) y se sometieron al sistema de imágenes Chemi-Doc-it. Se cuantificaron las intensidades de las bandas de proteína usando el programa informático Image J.

v) Evaluación histológica de aterosclerosis

Se aislaron los corazones, se fijaron en formol y se incrustaron en parafina. Se tiñeron secciones transversales (5 µm cada una) del área de la raíz aórtica completa con hematoxilina-floxina-azafrán. Por cada ratón, se usaron cuatro secciones a intervalos de 50 µm para la evaluación cuantitativa y cualitativa de las lesiones ateroscleróticas. Para determinar el tamaño y la gravedad de la lesión aterosclerótica, las lesiones se clasificaron en cinco categorías de acuerdo con la clasificación de la American Heart Association: I) estría grasa inicial, II) estría grasa regular, III) placa leve, IV) placa moderada y V) placa grave. Se calculó el área de lesión total y el número de lesiones por sección transversal, así como el porcentaje de segmentos sin enfermedad. Para evaluar la gravedad de la lesión como un porcentaje de todas las lesiones, las lesiones de tipo I-III se clasificaron como lesiones leves, y las lesiones de tipo IV-V se clasificaron como lesiones graves. Para determinar la carga de placas total en la aorta torácica, se limpiaron las aortas fijadas por perfusión (del origen aórtico al diafragma) de la grasa extravascular, se abrieron longitudinalmente,

se pincharon en la facies y se tiñeron para lípidos con oil-red O como se describe previamente por Verschuren *et al.* (Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2005; 25:161-167). Los datos se normalizaron para el área superficial analizada y se expresaron como el porcentaje del área teñida. Se tomaron fotos/imágenes con el microscopio Olympus BX51 y se midieron las áreas de lesión usando el programa informático de imágenes Cell D (Olympus Soft Imaging Solutions).

- 5 En la raíz aórtica, se determinó la composición de las lesiones para las lesiones graves (de tipo IV-V) como un porcentaje del área de lesión después de inmunotinción con anticuerpo de ratón anti- α actina humana (1:800; Monosan, Uden, Países Bajos) para células de músculo liso (SMC) y anticuerpo de rata anti-Mac-3 de ratón (1:25; BD Pharmingen, Países Bajos) para macrófagos seguido de tinción con rojo sirio para el colágeno. Se determinó el área necrótica y los pliegues de colesterol, la adhesión de monocitos al endotelio, la abundancia de linfocitos T en el área de la raíz aórtica y el cálculo del índice de estabilidad de placas (definido como la relación del área de colágeno y SMC como factores de estabilización con respecto al área de macrófagos y necrótica como factores de desestabilización) como se describe previamente por Kuhnast *et al.* (J Hypertens. 2012; 30:107-116), Stary *et al.* (Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1995; 15:1512-1531) y Kuhnast *et al.* (PLoS One. 2013; 8: e66467). Se usó anticuerpo de rata anti-CD54 de ratón, GTX76543 (GeneTex, Inc., San Antonio, TX, EE. UU.) para inmunotinción de la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1). Se tomaron fotos/imágenes con el microscopio Olympus BX40 con el sistema de imágenes multiespectrales Nuance 2, y las áreas teñidas se cuantificaron usando el programa informático Image J.

vi) Análisis de lípidos hepáticos y excreción fecal de ácidos biliares y esteroides neutros

Se homogeneizaron muestras de tejido hepático en solución salina tamponada con fosfato, y se midió el contenido de proteína. Se extrajeron los lípidos, se separaron por cromatografía en capa fina de alto rendimiento sobre placas de gel de sílice, y se analizaron con el programa informático TINA2.09 (Raytest Isotopen Messgeräte Straubenhardt, Alemania), como se describe previamente por Post *et al.* (Hepatology. 1999; 30:491-500).

Los ratones se alojaron a cinco ratones por jaula, y se recogieron las heces durante dos periodos consecutivos de 72 horas y 48 horas, respectivamente. Se usaron alícuotas de heces liofilizadas para la determinación del contenido de esteroles neutros y ácido por cromatografía de gases-líquidos, como se describe previamente por Post *et al.* (Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2003; 23:892-897).

vii) Análisis citométrico de flujo

Después de 8 semanas de tratamiento, se aislaron leucocitos mononucleares en la sangre periférica (PBMC) de muestras de sangre fresca y se clasificaron en GR-1+ (neutrófilos/granulocitos), GR-1- (linfocitos/monocitos), CD3+ (linfocitos T), CD19+ (linfocitos B) y células CD11b+/Ly6C^{low} y CD11b+/Ly6C^{hi} (monocitos) usando análisis citométrico de flujo (FACS). Se usaron los siguientes anticuerpos monoclonales conjugados de Becton Dickinson: GR-1 FITC, CD3 PerCpCy5-5, CD19 V450, CD11b APC y Ly6C PE-Cy7.

viii) Análisis estadístico

Se calculó la significación de las diferencias entre los grupos de forma no paramétrica usando un ensayo de Kruskal-Wallis para muestras independientes, seguido de un ensayo de la U de Mann-Whitney para muestras independientes. Se usaron análisis de regresión lineal para evaluar las correlaciones entre las variables. Como el área de la lesión aterosclerótica mostraba una dependencia cuadrática de la exposición en colesterol en plasma, se transformó usando transformación de raíz cuadrada. Se usó IBM SPSS Statistics 20 para Windows (SPSS, Chicago, EE. UU.) para los análisis estadísticos. Todos los grupos se compararon con el grupo de control y con el grupo de atorvastatina, y 3 mg/kg de mAb316P se comparó con 10 mg/kg de mAb316P con o sin atorvastatina. Los valores se presentan como la media \pm DT. Valores de $P < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos para una sola comparación. Se usó el método de Bonferroni para determinar el nivel de significación en el caso de comparaciones múltiples. En las figuras, los efectos significativos después de la corrección para múltiples comparaciones se indican por *** para comparar con el grupo de control, ††† para comparar con el grupo de atorvastatina y ‡‡‡ para comparar 3 mg/kg de mAb316P con 10 mg/kg de mAb316P.

45 Resultados

i) Monotratamiento con MAb316P y atorvastatina y su combinación disminuyen el colesterol total en plasma y los triglicéridos en ratones APOE*3Leiden.CETP

Se detectaron los niveles de mAb316P en circulación en todos los grupos a los que se administró mAb316P y variaron entre 5 y 12 μ g/ml (3 mg/kg de dosis) y 12 y 30 μ g/ml (10 mg/kg de dosis) durante el estudio de 18 semanas. Los ratones APOE*3Leiden.CETP con una WTD que contiene colesterol (grupo de control) alcanzaron niveles promedio de TC y TG en plasma de $16,2 \pm 1,8$ mmol/l y $2,9 \pm 0,6$ mmol/l, respectivamente (figuras 1A y 1B). En comparación con el control, mAb316P disminuyó el promedio de TC en plasma (-37 %, $P < 0,001$; -46 %, $P < 0,001$) y TG (-33 %, $P < 0,001$; -39 %, $P < 0,001$), y disminuyó adicionalmente TC en combinación con atorvastatina (-48 %, $P < 0,001$; -58 %, $P < 0,001$). En comparación con atorvastatina, ambos tratamientos combinados disminuyeron TC (-36 %, $P < 0,001$; -48 %, $P < 0,001$) y TG (-40 %, $P < 0,001$; -51 %, $P < 0,001$) hasta un grado mayor que atorvastatina en solitario. Las reducciones en TC después de mAb316P en solitario (-14 %, $P < 0,01$; 3 mg de mAb316P frente a 10 mg de mAb316P) y en combinación con atorvastatina (-19 %, $P < 0,001$; 3 mg de mAb316P+atorvastatina frente a 10 mg de

mAb316P+atorvastatina) fueron dependientes de la dosis y se mantuvieron durante el estudio. Las reducciones de TC después de mAb316P (figura 1C), atorvastatina y su combinación (figura 1D) estuvieron confinadas a lipoproteínas que contienen apoB. No se apreciaron efectos sobre BW (ganancia) y la ingesta de alimentos en ninguno de los grupos de tratamiento en comparación con el control.

5 ii) MAb316P, sin y con atorvastatina, disminuye los lípidos en plasma reduciendo la degradación del receptor de lipoproteína de baja densidad, y reduce el colesterol no HDL

Se midieron los niveles de proteína LDLR hepática para verificar si la inhibición de PCSK9 por mAb316P disminuye los lípidos en plasma rescatando la degradación de LDLR (figura 2A). Los niveles de proteína LDLR hepática estaban aumentados después de tratamiento con mAb316P en solitario (+80 %, $P < 0,01$; +133 %, $P < 0,01$) y junto con atorvastatina (+98 %, $P < 0,001$; +178 %, $P < 0,05$). En comparación con atorvastatina en solitario, ambos tratamientos combinados aumentaron los niveles de proteína LDLR hasta un grado mayor (+71 %, $P < 0,0045$; +140 %, $P < 0,01$). Una correlación inversa entre los niveles de proteína LDLR y TC en plasma confirma la implicación del LDLR en reducir TC por mAb316P ($R^2 = 0,50$, $P < 0,001$).

15 También se midieron los niveles de colesterol no HDL para verificar si la inhibición de PCSK9 por mAb316P disminuye dichos niveles por regulación por aumento del LDLR (figura 2B).

iii) MAb316P no afecta a los lípidos hepáticos y la excreción fecal de ácidos biliares y esterol neutro

Para evaluar las consecuencias de las alteraciones inducidas por mAb316P en el metabolismo de las lipoproteínas sobre el metabolismo y excreción en heces de lípidos hepáticos, se determinaron los lípidos hepáticos y la excreción de ácidos biliares y esteroles neutros en deposiciones. MAb316P no afectaba al peso del hígado ni al contenido hepático de colesterol y TG, mientras que la atorvastatina y los tratamientos combinados dieron lugar a reducciones significativas en el peso del hígado (-15 %, $P = 0,067$; -17 %, $P < 0,05$, N.S. después de corrección para múltiples comparaciones; -20 %, $P < 0,0045$, respectivamente) y ésteres de colesterol hepáticos (-48 %, $P < 0,0045$; -41 %, $P < 0,0045$ y -44 %, $P < 0,05$, N.S. después de corrección para múltiples comparaciones, respectivamente) en comparación con el grupo de control, sin un cambio en los triglicéridos hepáticos (tabla 3). La producción fecal de ácidos biliares y esteroles neutros no cambió por los tratamientos (tabla 4). Estos datos indican que, a pesar del mayor flujo entrante de colesterol desde el compartimento plasmático, se mantiene la homeostasis de colesterol hepático durante tratamiento con mAb316P y estatina.

Tabla 3: Efecto de mAb316P, atorvastatina y su combinación sobre lípidos hepáticos.

	Lípidos hepáticos (µg/mg de proteína)		
	FC	CE	TG
Control	11,6 ± 1,6	50,6 ± 14,0	119,2 ± 33,3
3 mg de mAb316P	11,2 ± 1,4 †	48,2 ± 8,2 ttt	117,7 ± 21,6
10 mg de mAb316P	11,4 ± 2,0 †	53,9 ± 10,4 ttt	142,1 ± 43,0 t
Atorvastatina	9,5 ± 0,9 *	26,2 ± 4,8 ***	90,6 ± 28,5
3 mg de mAb316P + atorvastatina	10,4 ± 1,8	29,6 ± 5,8 ***	103,5 ± 36,8
10 mg de mAb316P + atorvastatina	10,7 ± 1,2	28,3 ± 9,0 *	109,8 ± 28,8

FC: colesterol libre; CE: ésteres de colesterol; TG: triglicéridos.
 * $P < 0,05$, *** $P < 0,0045$ en comparación con control; † $P < 0,05$, †† $P < 0,0045$ en comparación con atorvastatina.

Tabla 4: Efecto de mAb316P, atorvastatina y su combinación sobre la excreción de esteroles y ácidos biliares.

	Excreción de esteroles neutros ($\mu\text{mol}/100 \text{ g de ratón/día}$)	Excreción de ácidos biliares ($\mu\text{mol}/100 \text{ g de ratón/día}$)
Control	25,8 \pm 5,5	13,5 \pm 3,3
3 mg de mAb316P	20,4 \pm 6,2 †	14,3 \pm 2,7 †
10 mg de mAb316P	21,6 \pm 5,6 †	12,4 \pm 3,2
Atorvastatina	30,3 \pm 6,5	10,7 \pm 2,4
3 mg de mAb316P + atorvastatina	28,6 \pm 6,0	11,4 \pm 2,2
10 mg de mAb316P + atorvastatina	27,5 \pm 4,4	12,7 \pm 1,6
† $P < 0,05$ en comparación con atorvastatina.		

5 iv) MAb316P reduce de forma dependiente de la dosis el desarrollo de aterosclerosis y potencia los efectos ateroprotectores de atorvastatina

Se evaluaron los efectos de mAb316P sobre el desarrollo de aterosclerosis, en ausencia y presencia de atorvastatina, en la raíz y el arco aórtico después de 18 semanas de tratamiento. Imágenes representativas de lesiones ateroscleróticas, como se ilustra en la figura 3, muestran que mAb316P, atorvastatina y su combinación reducían la progresión de la lesión. Para confirmar una reducción en el desarrollo de aterosclerosis, se evaluó el área de la lesión y el número de lesiones por sección transversal (figura 4A y figura 4B), junto con la gravedad de la lesión (figura 4C). Para el grupo de control, el área de la lesión total era $278 \pm 89 \times 103 \mu\text{m}^2$ por sección transversal, que consistía en $4,0 \pm 0,7$ lesiones por sección transversal. MAb316P disminuyó de forma dependiente de la dosis el tamaño de la lesión aterosclerótica (-71 %, $P < 0,001$; -88 %, $P < 0,001$) y potenció de forma dependiente de la dosis los efectos de atorvastatina (-89 %, $P < 0,001$; -98 %, $P < 0,001$) en comparación con el control. Además, mAb316P, con y sin atorvastatina, también disminuyó el número de lesiones (-17 %, $P < 0,05$, N.S. después de corrección para múltiples comparaciones; -30 %, $P < 0,0045$ y -41 %, $P < 0,001$; -77 %, $P < 0,001$, respectivamente). Ratones tratados con mAb316P, en solitario y en combinación con atorvastatina, tenían más secciones libres de lesión y lesiones menos graves (de tipo IV-V) en comparación con el control. Atorvastatina en solitario disminuyó el tamaño de la lesión (-35 %, $P < 0,05$, N.S. después de corrección para múltiples comparaciones) y redujo la gravedad a un grado menor sin efecto sobre el número de lesiones o segmentos sin enfermedad. En comparación con monoterapia con atorvastatina, las combinaciones disminuyeron además el tamaño de la lesión (-82 %, $P < 0,001$; -97 %, $P < 0,001$) y el número de lesiones (-38 %, $P < 0,001$; -76 %, $P < 0,001$) y aumentaron la cantidad de segmentos sin enfermedad.

Para evaluar el efecto del tratamiento con mAb316P sobre el desarrollo de la lesión en otro punto a lo largo de la aorta propenso al desarrollo de aterosclerosis, se midió la superficie de la placa en el arco aórtico (figura 4D). En este sitio, se retarda el desarrollo de la lesión en comparación con la raíz aórtica. De acuerdo con los efectos sobre la aterogénesis en el origen aórtico, 10 mg/kg de mAb316P en solitario (-67 %, $P < 0,05$, N.S. después de corrección para múltiples comparaciones) y ambas dosis junto con atorvastatina (-73 %, $P < 0,0045$; -73 %, $P < 0,0045$) redujeron al área de placa total.

Se evaluó el efecto antiaterogénico de mAb316P y atorvastatina (figura 5) y se observó una fuerte correlación entre los niveles de TC en plasma y el área de lesión aterosclerótica en la raíz aórtica ($R^2 = 0,84$, $P < 0,001$; figura 5), lo que indica una función importante de colesterol en el desarrollo de aterosclerosis.

30 v) MAb316P reduce el reclutamiento de monocitos y linfocitos T y mejora el índice de estabilidad de la lesión

Como marcador funcional de inflamación de la pared de los vasos, se contó el número de monocitos que se adhieren al endotelio activado (figura 8A) y el número de linfocitos T en el área de la raíz aórtica (figura 8B) y se calculó por sección transversal (figura 7A). En el grupo de control, estaban presentes $5,7 \pm 4,2$ monocitos adherentes y $16,7 \pm 7,7$ linfocitos T. Cuando se administra en solitario y junto con atorvastatina, la mayor dosis de mAb316P (10 mg/kg) disminuyó los monocitos adherentes (-57 %, $P < 0,01$, N.S. después de corrección para múltiples comparaciones, y -75 %, $P < 0,001$) y la abundancia de linfocitos T (-37 %, $P < 0,05$, N.S. después de corrección para múltiples comparaciones, y -62 %, $P < 0,001$). Para destacar adicionalmente el mecanismo por el que mAb316P reducía la adherencia de los monocitos, se evaluó la expresión de ICAM-1 endotelial por inmunohistoquímica (figura 8C). Para el control, un 39 % del endotelio era positivo para ICAM-1 en comparación con un 19 % ($P < 0,001$) después de monoterapia con 10 mg/kg de mAb316P y un 16 % ($P < 0,001$) cuando se administraba en combinación con

atorvastatina. La reducción en la adherencia de los monocitos, por lo tanto, se corroboró mediante una reducción en la expresión de la molécula de adhesión en células endoteliales después de tratamiento con mAb316P en solitario y en combinación con atorvastatina.

Después de investigar la morfología de la lesión, se analizaron los efectos del tratamiento en la composición de las placas en las lesiones graves (de tipo IV-V), que se considera que son las lesiones más vulnerables como se muestra por las imágenes representativas en la figura 6. Para ilustrar que la estabilidad de las placas no siempre es dependiente del tamaño de las lesiones, se incluyeron imágenes representativas de lesiones de tamaño similar para el grupo de control y el grupo de mAb316P. El área de macrófagos en la lesión (figura 7A izquierda) más el área central necrótica en la lesión (incluyendo pliegues de colesterol) (figura 7A derecha), se cuantificaron como factores de desestabilización mientras que las SMC en la cápsula fibrótica (figura 7B izquierda) y el área de colágeno (figura 7B derecha) se cuantificaron como factores de estabilización. Todos se expresaron como un porcentaje del área de lesión total. Las lesiones en el grupo de control consistían en un 10,3 % de macrófagos, un 4,8 % de núcleo necrótico y pliegues de colesterol, un 3,1 % de SMC en la cápsula y un 48,4 % de colágeno. El índice de estabilidad de la lesión (figura 7C) para el grupo de control fue $3,5 \pm 0,8$. Cuando se administraba en combinación con atorvastatina, la menor dosis de mAb316P (3 mg/kg) disminuía los factores de desestabilización (-26 %, $P < 0,05$, N.S. después de corrección para múltiples comparaciones) y aumentó los factores de estabilización (+19 %, $P < 0,05$, N.S. después de corrección para múltiples comparaciones), mientras que la mayor dosis (10 mg/kg) en solitario y en combinación con atorvastatina disminuyó los factores de desestabilización (-37 %, $P < 0,001$; +73 %, $P < 0,001$) y aumentó los factores de estabilización (+19 %, $P < 0,05$, N.S. después de corrección para múltiples comparaciones; +29 %, $P < 0,001$). MAb316P, por lo tanto, mejoró la estabilidad de la lesión como se muestra por un aumento en el índice de estabilidad de la lesión en solitario (+24 %, N.S.; +113 %, $P < 0,0045$) y junto con atorvastatina (+116 %, $P < 0,05$, N.S. después de corrección para múltiples comparaciones; 556 %, $P < 0,001$).

vi) MAb316P tiende a reducir los monocitos en circulación

Se evaluaron los efectos de mAb316P en solitario y en combinación con atorvastatina sobre el recuento de glóbulos blancos por citometría de flujo. De forma interesante, mAb316P en solitario y junto con atorvastatina redujo los granulocitos/neutrófilos (-20 %, $P < 0,05$, N.S. después de corrección para múltiples comparaciones; -34 %, $P < 0,001$) y monocitos (-28 %, $P < 0,05$, N.S. después de corrección para múltiples comparaciones; -39 %, $P < 0,001$) cuando se expresan como un porcentaje de la población de PBMC. Más específicamente, mAb316P en solitario y en combinación con atorvastatina tendía a disminuir los monocitos proinflamatorios Ly6C^{hi} (-8 %, $P = 0,061$; -19 %, $P < 0,001$) y a aumentar los antiinflamatorios Ly6C^{low} (+12 %, $P = 0,089$; +35 %, $P < 0,001$). Por lo tanto, el efecto de mAb316P sobre el reclutamiento vascular y la adhesión de monocitos puede aumentarse mediante una reducción en los monocitos en circulación.

Tabla 5 Efecto de mAb316P, atorvastatina y su combinación sobre el recuento de glóbulos blancos evaluado por análisis citométrico de flujo después de 8 semanas de tratamiento.

	Control	10 mg/kg de MAb316P	Atorvastatina	10 mg/kg de MAb316P + atorvastatina
Neutrófilos/granulocitos (% de la población de PBMC)	8,9 ± 2,4	7,1 ± 2,0 * ††	5,1 ± 1,6 ***	5,9 ± 2,0 ***
Linfocitos/monocitos (% de la población de PBMC)	91,1 ± 2,4	92,9 ± 2,0 * ††	94,9 ± 1,6 ***	94,1 ± 2,0 ***
▪ linfocitos T (% de la población de PBMC)	22,9 ± 4,6	21,4 ± 5,0 †	17,0 ± 4,8 ***	18,5 ± 4,5 *
▪ linfocitos B (% de la población de PBMC)	63,9 ± 8,5	66,3 ± 15,0	69,5 ± 17,4 ***	66,9 ± 2,0 ***
▪ Monocitos (% de la población de PBMC)	12,3 ± 5,0	8,9 ± 2,5 * †††	5,3 ± 2,4 ***	7,5 ± 2,8 *** †
▪ CD11b+ Ly6C ^{hi} (% de monocitos)	62,2 ± 8,5	57,5 ± 8,4 $P = 0,061$ †	51,2 ± 6,4 ***	50,2 ± 4,1 ***
▪ CD11b+ Ly6C ^{ow} (% de monocitos)	35,6 ± 7,7	40,0 ± 8,0 $P = 0,089$ †	47,8 ± 6,3 ***	48,0 ± 3,5 ***

* $P < 0,05$, *** $P < 0,0125$ en comparación con control; † $P < 0,05$, †† $P < 0,01$, ††† $P < 0,0125$ en comparación con atorvastatina (n = 15 por grupo)

Compendio

5 El presente estudio se diseñó para investigar los efectos de mAb316P *per se* sobre el desarrollo de aterosclerosis y en combinación con atorvastatina. Tomados conjuntamente, estos datos demuestran que mAb316P disminuye de forma dependiente de la dosis el colesterol en plasma, la progresión de aterosclerosis y la vulnerabilidad de la placa, y potencia los efectos beneficiosos de atorvastatina en ratones APOE*3Leiden.CETP. Este es el primer estudio para mostrar que el anticuerpo monoclonal contra PCSK9 reduce el desarrollo de aterosclerosis.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> SASIELA, WILLIAM J. GUSAROVA, VIKTORIA PEYMAN, ANUSCH SCHAEFER, HANS-LUDWIG SCHWAHN, UWE

10 <120> MÉTODOS PARA INHIBIR LA ATEROESCLEROSIS ADMINISTRANDO UN INHIBIDOR DE PCSK9

<130> US2013/205 PCT

<140>

<141>

<160> 198

15 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético

<400> 1

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

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

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Val
35 40 45

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

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

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

Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 2
Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Ala
1 5
 <210> 3
 <211> 8
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 3
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr
1 5
 15 <210> 4
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 4
Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu
1 5 10
 <210> 5
 25 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido de la cadena pesada de REGN727 sintético
 30 <400> 5
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Val
35 40 45

ES 2 901 400 T3

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

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

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

Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

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

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

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

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

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

ES 2 901 400 T3

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

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

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

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

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

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

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

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 6

<211> 113

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético

<400> 6

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Ser Asn Asn Arg Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

10

ES 2 901 400 T3

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 7

<211> 12

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 7

Gln Ser Val Leu Tyr Arg Ser Asn Asn Arg Asn Phe
1 5 10

10 <210> 8

<211> 3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 8

Trp Ala Ser
1

<210> 9

<211> 220

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido de la cadena ligera de REGN727 sintético

<400> 9

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

25 Ser Asn Asn Arg Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

ES 2 901 400 T3

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético

<400> 11

Glu Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ala Asn Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr Asp Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

5 <210> 12

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 12

Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Trp
1 5

<210> 13

<211> 8

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 13

Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys
1 5

20 <210> 14

ES 2 901 400 T3

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 14

Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr Asp Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Met Asp Val
20

<210> 15

<211> 112

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético

<400> 15

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala 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 Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Thr
85 90 95

15 Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 16

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Asn Tyr
1 5 10

<210> 17

<211> 3

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 17

10 **Leu Gly Ser**
1

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 18

Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 19

20 <211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

25 <400> 19

Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Trp
1 5

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 20

Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys
1 5

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 25
Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Trp
1 5
 <210> 26
 <211> 8
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 26
Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys
 15 **1 5**
 <210> 27
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 27
Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr His Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Met Asp Val
20
 <210> 28
 25 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético
 30 <400> 28
Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Asn Tyr
1 5 10
 <210> 29
 <211> 3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

5 <400> 29
Leu Gly Ser
1
 <210> 30
 <211> 9
 <212> PRT

10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 30
Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Leu Thr
1 5

15 <210> 31
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

20 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 31
Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Trp
1 5
 <210> 32
 <211> 8

25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético
 <400> 32
Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys
1 5

30 <210> 33
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>

ES 2 901 400 T3

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 33

Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr His Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Met Asp Val 20

5 <210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 34

Gln Ser Leu His His Ser Asn Gly Asn Asn Tyr
1 5 10

<210> 35

<211> 3

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 35

20 **Leu Gly Ser**
1

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 36

Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 37

30 <211> 131

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: VH sintético; polipéptido m2CX1D05

35 <400> 37

ES 2 901 400 T3

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 Asn Ser His
20 25 30

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

Gly Gly Ile Asn Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu 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 Arg His Tyr Glu Ile Gln Ile Gly Arg Tyr Gly Met Asn Val Tyr
100 105 110

Tyr Leu Met Tyr Arg Phe Ala Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
115 120 125

Val Ser Ser
130

<210> 38

5 <211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: CDR1 de VH sintético; péptido m2CX1D05

10 <400> 38

Gly Gly Thr Phe Asn Ser His Ala Ile Ser
1 5 10

<210> 39

<211> 20

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: CDR2 de VH sintético; péptido m2CX1D05

<400> 39

Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln
1 5 10 15

ES 2 901 400 T3

Lys Phe Gln Gly
20

<210> 40

<211> 22

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: CDR3 de VH sintético; péptido m2CX1D05

<400> 40

His Tyr Glu Ile Gln Ile Gly Arg Tyr Gly Met Asn Val Tyr Tyr Leu
1 5 10 15

Met Tyr Arg Phe Ala Ser
20

10

<210> 41

<211> 213

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: LC sintético; polipéptido m2CX1D05

<400> 41

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 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Ala
20 25 30

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

Tyr Asn Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser 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 Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asp Gly Asp Pro Thr
85 90 95

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

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

ES 2 901 400 T3

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

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

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

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

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

Asn Arg Gly Glu Ala
 210

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: CDR1 de VL sintético; péptido m2CX1D05

<400> 42

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

10 <210> 43

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: CDR2 de VL sintético; péptido m2CX1D05

<400> 43

Leu Leu Ile Tyr Asn Gly Ser Thr Leu Gln Ser
 1 5 10

<210> 44

<211> 7

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: CDR3 de VL sintético; péptido m2CX1D05

<400> 44

25 Gln Gln Phe Asp Gly Asp Pro
 1 5

ES 2 901 400 T3

<210> 45

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: VH sintético; polipéptido 1B20

<400> 45

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Trp Tyr Lys Pro Leu Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 46

<211> 10

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: CDR1 de VH sintético; péptido 1B20

<400> 46

15 Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp Ile Ser
1 5 10

<210> 47

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: CDR2 de VH sintético; péptido 1B20

ES 2 901 400 T3

<400> 47

Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro
 1 5 10 15

Ser Phe Gln Gly
 20

<210> 48

<211> 10

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: CDR3 de VH sintético; péptido 1B20

<400> 48

10 Asp Tyr Trp Tyr Lys Pro Leu Phe Asp Ile
 1 5 10

<210> 49

<211> 220

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: LC sintético; polipéptido 1B20

<400> 49

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

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

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95

ES 2 901 400 T3

Tyr Ser Ser Phe Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 180 185 190

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Ala
 210 215 220

<210> 50

<211> 17

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: CDR1 de VL sintético; péptido 1B20

<400> 50

Arg Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15

Ala

10 <210> 51

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: CDR2 de VL sintético; péptido 1B20

<400> 51

Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 1 5 10

<210> 52

<211> 8

20 <212> PRT

ES 2 901 400 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: CDR3 de VL sintético; péptido 1B20

<400> 52

5 Gln Gln Tyr Ser Ser Phe Pro Ile
1 5

<210> 53

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido de la región pesada variable de anticuerpo sintético

<400> 53

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Gly Ser Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Arg Tyr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120

<210> 54

15 <211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la región CDR1 de la cadena pesada de anticuerpo AX132 sintético

<400> 54

ES 2 901 400 T3

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Tyr Trp Val Arg
 1 5 10 15

<210> 55

<211> 23

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la región CDR2 de la cadena pesada de anticuerpo AX132 sintético

<400> 55

Trp Ile Gly Trp Ile Asp Pro Gly Ser Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Glu
 1 5 10 15

10 Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr
 20

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la región CDR3 de la cadena pesada de anticuerpo AX132 sintético

<400> 56

Cys Ala Arg Glu Arg Tyr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 1 5 10 15

20 <210> 57

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido de la región ligera variable de anticuerpo sintético

<400> 57

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

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

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

ES 2 901 400 T3

50

55

60

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

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

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

<210> 58

<211> 17

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la región CDR1 de la cadena ligera de anticuerpo AX213 y AX132 sintético

<400> 58

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Gly Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr
1 5 10 15

10 Gln

<210> 59

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la región CDR2 de la cadena ligera de anticuerpo AX213 y AX132 sintético

<400> 59

Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro
1 5 10

20 <210> 60

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la región CDR3 de la cadena ligera de anticuerpo AX132 y AX213 sintético

<400> 60

Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Pro Pro Val Val Phe Gly Gly
1 5 10 15

<210> 61

ES 2 901 400 T3

<211> 120

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido de la región pesada variable de anticuerpo sintético

<400> 61

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

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

Gly Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asn Gly Gly Thr Arg Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Ala Asn Asp Gly Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120

<210> 62

<211> 16

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la región CDR1 de la cadena pesada de anticuerpo AX213 sintético

15 <400> 62

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Arg Tyr Gly Ile Asn Trp Val Arg
1 5 10 15

<210> 63

<211> 23

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 901 400 T3

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la región CDR2 de la cadena pesada de anticuerpo AX213 sintético

<400> 63

Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asn Gly Gly Thr Arg Tyr Asn Glu
1 5 10 15

Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr
20

5 <210> 64

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la región CDR3 de la cadena pesada de anticuerpo AX213 sintético

<400> 64

Cys Ala Arg Ala Asn Asp Gly Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
1 5 10 15

<210> 65

15 <211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido de la región ligera variable de anticuerpo sintético

20 <400> 65

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

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

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

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

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

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

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

<210> 66

ES 2 901 400 T3

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la región CDR1 de la cadena ligera de anticuerpo AX213 y AX132 sintético

<400> 66

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Gly Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr
1 5 10 15

Gln

<210> 67

10 <211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la región CDR2 de la cadena ligera de anticuerpo AX213 y AX132 sintético

<400> 67

Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro
1 5 10

<210> 68

<211> 16

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la región CDR3 de la cadena ligera de anticuerpo AX132 y AX213 sintético

25 <400> 68

Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Pro Pro Val Val Phe Gly Gly
1 5 10 15

<210> 69

<211> 119

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido de la secuencia de VH de anticuerpo AX1 sintético

<400> 69

ES 2 901 400 T3

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asn Pro Asp Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ser Trp Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 70

5 <211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la secuencia de CDR1 de VH de anticuerpo AX1 sintético

10 <400> 70

Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg
1 5 10 15

<210> 71

<211> 23

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la secuencia de CDR2 de VH de anticuerpo AX1 sintético

<400> 71

Trp Ile Gly Arg Ile Asn Pro Asp Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu
1 5 10 15

Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr
20

20 <210> 72

ES 2 901 400 T3

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la secuencia de CDR3 de VH de anticuerpo AX1 sintético

<400> 72

Cys Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ser Trp Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln
 1 5 10 15

<210> 73

<211> 109

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido de la secuencia de VL de anticuerpo AX1 sintético

<400> 73

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 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Arg Tyr
 20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser 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 Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Ala Tyr Asp Tyr Ser Leu Gly
 85 90 95

15 Gly Tyr Val Phe Gly Asp Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la secuencia de CDR1 de VL de anticuerpo AX1 sintético

<400> 74

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Arg Tyr Leu Ala
 1 5 10

ES 2 901 400 T3

<210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la secuencia de CDR2 de VL de anticuerpo AX1 AX9 AX189 sintético

<400> 75

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

10 <210> 76

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la secuencia de CDR3 de VL de anticuerpo AX1 sintético

<400> 76

Ala Ala Tyr Asp Tyr Ser Leu Gly Gly Tyr Val
1 5 10

<210> 77

<211> 121

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido de la secuencia de VH de anticuerpo AX9 AX189 sintético

<400> 77

ES 2 901 400 T3

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

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

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

Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Tyr Gly Tyr Tyr Leu Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 78

<211> 16

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la secuencia de CDR1 de VH de anticuerpo AX9 AX189 sintético

<400> 78

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met His Trp Val Arg
1 5 10 15

10 <210> 79

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la secuencia de CDR2 de VH de anticuerpo AX9 AX189 sintético

<400> 79

Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Glu
1 5 10 15

Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr
20

<210> 80

<211> 18

ES 2 901 400 T3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la secuencia de CDR3 de VH de anticuerpo AX9 AX189 sintético

5 <400> 80

Cys Ala Arg Tyr Gly Tyr Tyr Leu Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
1 5 10 15

Gly Gln

<210> 81

<211> 109

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido de la secuencia de VL de anticuerpo AX189 sintético

<400> 81

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

15

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Arg Tyr
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser 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 Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Tyr Asp Tyr Ser Leu Ser
85 90 95

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

<210> 82

<211> 11

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la secuencia de CDR1 de VL de anticuerpo AX189 sintético

ES 2 901 400 T3

<400> 82

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Arg Tyr Leu Thr
1 5 10

<210> 83

<211> 7

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la secuencia de CDR2 de VL de anticuerpo AX1 AX9 AX189 sintético

10 <400> 83

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 84

<211> 11

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la secuencia de CDR3 de VL de anticuerpo AX189 sintético

<400> 84

Gln Ala Tyr Asp Tyr Ser Leu Ser Gly Tyr Val
1 5 10

20 <210> 85

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

ES 2 901 400 T3

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Trp Val Ser Phe Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
 50 55 60

Gln Gly Arg Gly Thr Met Thr Thr Asp Pro Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 86

<211> 5

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 86

Ser Tyr Gly Ile Ser
 1 5

<210> 87

<211> 17

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

Trp Val Ser Phe Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
 1 5 10 15

Gly

15

<210> 88

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20 <400> 88

ES 2 901 400 T3

Gly Tyr Gly Met Asp Val
1 5

<210> 89

<211> 109

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 89

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Tyr Thr Ser Thr
85 90 95

Ser Met Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 90

<211> 14

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Ser Val Ser
1 5 10

<210> 91

15 <211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

20 <210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 901 400 T3

<400> 92

Asn Ser Tyr Thr Ser Thr Ser Met Val
1 5

<210> 93

<211> 123

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Tyr Asp Phe Trp Ser Ala Tyr Tyr Asp Ala Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 94

10 <211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

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

15 <210> 95

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

ES 2 901 400 T3

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

Gly

<210> 96

<211> 14

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 96

Asp Tyr Asp Phe Trp Ser Ala Tyr Tyr Asp Ala Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 97

<211> 111

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

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

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Leu Ile Ser Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
 85 90 95

Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 98

15 <211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His
 1 5 10

20 <210> 99

<211> 7

ES 2 901 400 T3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

5 <210> 100

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 100

10 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Val
1 5 10

<210> 101

<211> 114

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 101

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Ala Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

Ala Val Ile Tyr Tyr Asp Gly Ile Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Arg Gly Leu Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 102

<211> 10

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 102

ES 2 901 400 T3

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
 1 5 10

<210> 103

<211> 17

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 103

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

Gly

<210> 104

<211> 5

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

Asp Arg Gly Leu Asp
 1 5

<210> 105

15 <211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 105

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

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

Ser Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95

20

Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110

Lys

ES 2 901 400 T3

<210> 106

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5 <400> 106

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Ser Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Val

<210> 107

<211> 7

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 107

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 108

<211> 9

15 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 108

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 109

20 <211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido de la región variable de la cadena pesada Vh (FR1-FR4) de anticuerpo monoclonal pJG04 sintético anti-PCSK9 (clones LGT-209 y LGT-210)

<400> 109

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Thr Met
20 25 30

ES 2 901 400 T3

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

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Glu His Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 110

<211> 5

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de CDR1 de la cadena pesada de los clones LGT-209, LGT-210 y LGT-211 de anticuerpo monoclonal sintético anti-PCSK9

<400> 110

Thr Met Tyr Met Ser
 1 5

10

<210> 111

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de CDR2 de la cadena pesada de los clones LGT-209, LGT-210 y LGT-211 de anticuerpo monoclonal sintético anti-PCSK9

<400> 111

Arg Ile Asp Pro Ala Asn Glu His Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

20

<210> 112

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 901 400 T3

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de la región determinante de complementariedad 3 (CDR3) de la cadena pesada Vh de anticuerpo monoclonal pJG04 anti-PCSK9 (clones LGT-209 y LGT-210)

<400> 112

Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Met Asp Tyr

1 5

5 <210> 113

<211> 106

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido de la región variable de la cadena ligera Vk (FR1-FR4) de anticuerpo monoclonal pJG10 sintético anti-PCSK9 (clones LGT-209 y LGT-211)

<400> 113

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

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

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

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

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Trp Ser Ser Asp Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 114

15 <211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de CDR1 de la cadena ligera de los clones LGT-209, LGT-210 y LGT-211 de anticuerpo monoclonal sintético anti-PCSK9

<400> 114

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 115

<211> 7

ES 2 901 400 T3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de CDR1 de la cadena ligera de los clones LGT-209, LGT-210 y LGT-211 de anticuerpo monoclonal sintético anti-PCSK9

<400> 115

Gly Val Phe Arg Arg Ala Thr
1 5

<210> 116

<211> 9

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de CDR3 de la cadena ligera del anticuerpo monoclonal de ratón LFU720 sintético anti-PCSK9 y los clones LGT-209, LGT-210 y LGT-211 de anticuerpo monoclonal anti-PCSK9

15 <400> 116

Leu Gln Trp Ser Ser Asp Pro Pro Thr
1 5

<210> 117

<211> 118

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 117

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Glu Ile Ser Pro Phe Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

ES 2 901 400 T3

Ala Arg Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 118

<211> 7

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 118

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
1 5

10 <210> 119

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 119

Ser Pro Phe Gly Gly Arg
1 5

<210> 120

<211> 9

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de CDR de la cadena pesada variable sintética

<400> 120

Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser Asp Leu
1 5

25 <210> 121

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30 <400> 121

ES 2 901 400 T3

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 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
 20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Tyr Ser Leu Trp Arg
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 122

5 <211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de CDR de la cadena ligera variable sintética

10 <400> 122

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

<210> 123

<211> 7

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de CDR de la cadena ligera variable sintética

<400> 123

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
 1 5

20 <210> 124

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 901 400 T3

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de CDR de la cadena ligera variable sintética

<400> 124

Gln Gln Arg Tyr Ser Leu Trp Arg Thr
1 5

5 <210> 125

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 125

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Glu Ile His Pro Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val 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 Arg Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

10 Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 126

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 126

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His
1 5 10

<210> 127

<211> 17

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 127

ES 2 901 400 T3

Glu Ile His Pro Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Ser

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 128

Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5

<210> 129

<211> 107

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

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 Gln Asp Val His Thr Ala
 20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Tyr Ser Leu Trp Arg
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 130

15 <211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala Val Ala
 1 5 10

20 <210> 131

<211> 7

ES 2 901 400 T3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

His Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
1 5

5 <210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

10 Gln Gln Arg Tyr Ser Leu Trp Arg Thr
1 5

<210> 133

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 133

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Glu Ile His Pro Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val 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 Arg Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 134

<211> 10

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 134

ES 2 901 400 T3

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His
 1 5 10

<210> 135

<211> 17

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 135

Glu Ile His Pro Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Ser

<210> 136

<211> 9

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser Asp Leu
 1 5

<210> 137

15 <211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

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 Gln Asp Val His Thr Ala
 20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Tyr Ser Leu Trp Arg
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

20 <210> 138

<211> 11

ES 2 901 400 T3

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Ser Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 142

<211> 7

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 142

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
1 5

<210> 143

<211> 6

10 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 143

Asn Pro Ser Asn Gly Arg
1 5

<210> 144

15 <211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 144

Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5

20 <210> 145

<211> 108

ES 2 901 400 T3

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 145

Asp Ile Val 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 Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

5 <210> 146

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 146

10 Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 147

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de CDR de la cadena ligera variable sintética

<400> 147

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
1 5

<210> 148

20 <211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 148

ES 2 901 400 T3

Gln Gln Arg Tyr Ser Thr Pro Arg Thr
1 5

<210> 149

<211> 115

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 149

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 Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Tyr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Leu Leu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100

105

110

Val Ser Ala
115

<210> 150

10 <211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 150

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
1 5

15 <210> 151

<211> 6

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 151

20 Asn Pro Asn Asn Gly Gly
1 5

<210> 152

ES 2 901 400 T3

<211> 6

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 152

5 Trp Leu Leu Phe Ala Tyr
1 5

<210> 153

<211> 108

<212> PRT

<213> Mus musculus

10 <400> 153

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Leu Ser
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 154

15 <211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 154

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala
1 5 10

20 <210> 155

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 155

ES 2 901 400 T3

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 156

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 156

Gln Gln Phe Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 157

<211> 123

10 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 157

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 Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Asn 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 Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Gly Gly Ile Tyr Tyr Arg Tyr Asp Arg Asn Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 158

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

20 <400> 158

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
1 5

<210> 159

ES 2 901 400 T3

<211> 6

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 159

5 **Asn Pro Asn Asn Gly Gly**
 1 5

<210> 160

<211> 14

<212> PRT

<213> Mus musculus

10 <400> 160

Gly Gly Ile Tyr Tyr Arg Tyr Asp Arg Asn Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 161

<211> 107

<212> PRT

15 <213> Mus musculus

<400> 161

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Phe
 85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

20 <210> 162

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 162

ES 2 901 400 T3

35

40

45

Ala Asn Ile Asn Tyr Asp Gly Ser Asn Thr Ser Tyr Leu Asp Ser Leu
50 55 60

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

Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Lys Phe Ala Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 166

<211> 7

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 166

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
1 5

<210> 167

<211> 6

10 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 167

Asn Tyr Asp Gly Ser Asn
1 5

<210> 168

15 <211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 168

Glu Lys Phe Ala Ala Met Asp Tyr
1 5

20 <210> 169

<211> 108

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 169

25 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Phe Gly
1 5 10 15

ES 2 901 400 T3

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Ala
 20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
 65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 170

<211> 11

5 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 170

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Ala Leu Ala
 1 5 10

<210> 171

10 <211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido de CDR de la cadena ligera variable sintética

15 <400> 171

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
 1 5

<210> 172

<211> 9

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<400> 172

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
 1 5

<210> 173

<211> 121

25 <212> PRT

ES 2 901 400 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético

<400> 173

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

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

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Ser Pro Ala Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Ile Gly Ser Arg Glu Leu Tyr Ile Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

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

<210> 174

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 174

Gly Phe Thr Phe Thr Arg His Thr Ile His
1 5 10

<210> 175

15 <211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

20 <400> 175

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

Gly

<210> 176

<211> 12

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 176

Trp Ile Gly Ser Arg Glu Leu Tyr Ile Met Asp Tyr
1 5 10

10 <210> 177

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético

<400> 177

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 Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser 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 Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Arg Ile Gln Pro
85 90 95

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

<210> 178

<211> 11

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

ES 2 901 400 T3

<400> 178

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 179

<211> 7

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 179

10 **Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser**
1 5

<210> 180

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 180

Gln Gln Ser Tyr Arg Ile Gln Pro Thr
1 5

<210> 181

20 <211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético

25 <400> 181

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

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

Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Ser Pro Ala Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

ES 2 901 400 T3

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

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

Ala Arg Trp Ile Gly Ser Arg Glu Leu Tyr Ile Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 182

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 182

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Thr Ala Ile His
1 5 10

10 <210> 183

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 183

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

Gly

<210> 184

<211> 12

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 184

25 Trp Ile Gly Ser Arg Glu Leu Tyr Ile Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 185

ES 2 901 400 T3

<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 185
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 Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser 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 Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Pro Ala Leu His
85 90 95

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

<210> 186

<211> 11

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 186

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

10 <210> 187

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 187

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1 5

<210> 188

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 188

Gln Gln Ser Tyr Pro Ala Leu His Thr
1 5

<210> 189

<211> 125

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético

<400> 189

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Lys Leu
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Glu Gly Ile Ser Phe Gln Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Val Met
100 105 110

15 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 190

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

ES 2 901 400 T3

<400> 190

Gly Phe Pro Phe Ser Lys Leu Gly Met Val
1 5 10

<210> 191

<211> 17

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 191

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

10 Gly

<210> 192

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 192

Glu Gly Ile Ser Phe Gln Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Val Met Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 193

20 <211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético

25 <400> 193

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Arg
20 25 30

Asn Gly Ile Thr Tyr Ser Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

ES 2 901 400 T3

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Leu Ser Asn Leu Ala 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 Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Asn
85 90 95

Leu Glu Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 194

<211> 16

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 194

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Arg Asn Gly Ile Thr Tyr Ser Tyr
1 5 10 15

10 <210> 195

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 195

Gln Leu Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 196

<211> 9

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 196

25 Tyr Gln Asn Leu Glu Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 197

<211> 2076

<212> ADN

<213> Homo sapiens

ES 2 901 400 T3

<400> 197

atgggacaccg tcagctccag gcggtcctgg tggccgctgc cactgctgct gctgctgctg	60
ctgctcctgg gtcccgcggg cgcccgtgcg caggaggacg aggacggcga ctacgaggag	120
ctggtgctag cettgcgttc cgaggaggac ggcctggccg aagcacccga gcacggaacc	180
acagccacct tccaccgctg cgccaaggat ccggtggaggt tgcctggcac ctacgtggtg	240
gtgctgaagg aggagacca cctctgcag tcagagcgca ctgcccgccg cctgcaggcc	300
caggctgcc gccgggata cctcaccaag atcctgcatg tcttccatgg ctttcttct	360
ggctcctgg tgaagatgag tggcgacctg ctggagctgg ccttgaagt gccccatgtc	420
gactacatcg aggaggactc ctctgtcttt gccagagca tcccgtggaa cctggagcgg	480
attaccctc cacggtaccg ggcgatgaa taccagcccc ccgacggagg cagcctggtg	540
gagggtgatc tcttagacac cagcatacag agtgaccacc gggaaatcga gggcagggtc	600
atggtcaccg acttcgagaa tgtgcccag gaggacggga cccgcttcca cagacaggcc	660
agcaagtgtg acagtcatgg caccacactg gcaggggtgg tcagcggccg ggatgccggc	720
gtggccaagg gtgccagcat gcgcagcctg cgcgctgctca actgccaagg gaagggcacg	780
gttagcggca ccctcatagg cctggagttt attcggaaaa gccagctggt ccagcctgtg	840
gggccactgg tggtgctgct gccctggcg ggtgggtaca gccgcgtcct caacgccgcc	900
tgccagcgc tggcgagggc tggggtcgtg ctggtcaccg ctgcccggca cttccgggac	960
gatgcctgcc tctactcccc agcctcagct cccgaggtca tcacagttgg ggcaccaat	1020
gccaagacc agccggtgac cctggggact ttggggacca actttggccg ctgtgtggac	1080
ctctttgcc caggggagga cateattggt gcctccagcg actgcagcac ctgctttgtg	1140
tcacagagtg ggacatcaca ggctgctgcc cacgtggctg gcattgcagc catgatgctg	1200
tctgccgagc cggagctcac cctggccgag ttgaggcaga gactgatcca cttctctgcc	1260
aaagatgtca tcaatgaggc ctggttcctt gaggaccagc ggtactgac cccaacctg	1320
gtggccgccc tgccccccag caccatggg gcaggttggc agctgttttg caggactgta	1380
tggtcagcac actcggggcc tacacggatg gccacagccg tcgcccgtg cggcccagat	1440
gaggagtgc tgagctgctc cagtttctcc aggagtggga agcggcggg cgagcgcag	1500
gaggcccaag ggggcaagct ggtctgccg gccacaacg cttttggggg tgagggtgtc	1560
tacgccattg ccaggtgctg cctgctacct caggccaact gcagcgtcca cacagctcca	1620
ccagctgagg ccagcatggg gaccctgtc cactgccacc aacagggcca cgtcctcaca	1680
ggctgcagct cccactggga ggtggaggac cttggcacc acaagccgcc tgtgctgagg	1740
ccacgaggtc agcccaacca gtgcgtgggc cacagggagg ccagcatcca cgcttctctg	1800
tgccatgcc caggtctgga atgcaaagtc aaggagcatg gaatcccggc ccctcaggag	1860
caggtgaccg tggcctgcga ggagggtgg accctgactg gctgcagtgc cctccctggg	1920
acctcccacg tcctgggggc ctacgccgta gacaacacgt gtgtagttag gagccgggac	1980
gtcagcacta caggcagcac cagcgaagg gccgtgacag ccgttgccat ctgctgccgg	2040
agccggcacc tggcgcaggc ctcccaggag ctccag	2076

ES 2 901 400 T3

<210> 198

<211> 692

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5 <400> 198

Met Gly Thr Val Ser Ser Arg Arg Ser Trp Trp Pro Leu Pro Leu Leu
1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Ala Gly Ala Arg Ala Gln Glu
20 25 30

Asp Glu Asp Gly Asp Tyr Glu Glu Leu Val Leu Ala Leu Arg Ser Glu
35 40 45

Glu Asp Gly Leu Ala Glu Ala Pro Glu His Gly Thr Thr Ala Thr Phe
50 55 60

His Arg Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr Tyr Val Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Glu Glu Thr His Leu Ser Gln Ser Glu Arg Thr Ala Arg
85 90 95

Arg Leu Gln Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile Leu
100 105 110

His Val Phe His Gly Leu Leu Pro Gly Phe Leu Val Lys Met Ser Gly
115 120 125

Asp Leu Leu Glu Leu Ala Leu Lys Leu Pro His Val Asp Tyr Ile Glu
130 135 140

Glu Asp Ser Ser Val Phe Ala Gln Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg
145 150 155 160

Ile Thr Pro Pro Arg Tyr Arg Ala Asp Glu Tyr Gln Pro Pro Asp Gly
165 170 175

Gly Ser Leu Val Glu Val Tyr Leu Leu Asp Thr Ser Ile Gln Ser Asp
180 185 190

ES 2 901 400 T3

His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Met Val Thr Asp Phe Glu Asn Val
 195 200 205

Pro Glu Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp
 210 215 220

Ser His Gly Thr His Leu Ala Gly Val Val Ser Gly Arg Asp Ala Gly
 225 230 235 240

Val Ala Lys Gly Ala Ser Met Arg Ser Leu Arg Val Leu Asn Cys Gln
 245 250 255

Gly Lys Gly Thr Val Ser Gly Thr Leu Ile Gly Leu Glu Phe Ile Arg
 260 265 270

Lys Ser Gln Leu Val Gln Pro Val Gly Pro Leu Val Val Leu Leu Pro
 275 280 285

Leu Ala Gly Gly Tyr Ser Arg Val Leu Asn Ala Ala Cys Gln Arg Leu
 290 295 300

Ala Arg Ala Gly Val Val Leu Val Thr Ala Ala Gly Asn Phe Arg Asp
 305 310 315 320

Asp Ala Cys Leu Tyr Ser Pro Ala Ser Ala Pro Glu Val Ile Thr Val
 325 330 335

Gly Ala Thr Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr Leu Gly
 340 345 350

Thr Asn Phe Gly Arg Cys Val Asp Leu Phe Ala Pro Gly Glu Asp Ile
 355 360 365

Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser Gln Ser Gly
 370 375 380

Thr Ser Gln Ala Ala Ala His Val Ala Gly Ile Ala Ala Met Met Leu
 385 390 395 400

Ser Ala Glu Pro Glu Leu Thr Leu Ala Glu Leu Arg Gln Arg Leu Ile
 405 410 415

His Phe Ser Ala Lys Asp Val Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp
 420 425 430

Gln Arg Val Leu Thr Pro Asn Leu Val Ala Ala Leu Pro Pro Ser Thr
 435 440 445

ES 2 901 400 T3

His Gly Ala Gly Trp Gln Leu Phe Cys Arg Thr Val Trp Ser Ala His
450 455 460

Ser Gly Pro Thr Arg Met Ala Thr Ala Val Ala Arg Cys Ala Pro Asp
465 470 475 480

Glu Glu Leu Leu Ser Cys Ser Ser Phe Ser Arg Ser Gly Lys Arg Arg
485 490 495

Gly Glu Arg Met Glu Ala Gln Gly Gly Lys Leu Val Cys Arg Ala His
500 505 510

Asn Ala Phe Gly Gly Glu Gly Val Tyr Ala Ile Ala Arg Cys Cys Leu
515 520 525

Leu Pro Gln Ala Asn Cys Ser Val His Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ala
530 535 540

Ser Met Gly Thr Arg Val His Cys His Gln Gln Gly His Val Leu Thr
545 550 555 560

Gly Cys Ser Ser His Trp Glu Val Glu Asp Leu Gly Thr His Lys Pro
565 570 575

Pro Val Leu Arg Pro Arg Gly Gln Pro Asn Gln Cys Val Gly His Arg
580 585 590

Glu Ala Ser Ile His Ala Ser Cys Cys His Ala Pro Gly Leu Glu Cys
595 600 605

Lys Val Lys Glu His Gly Ile Pro Ala Pro Gln Glu Gln Val Thr Val
610 615 620

Ala Cys Glu Glu Gly Trp Thr Leu Thr Gly Cys Ser Ala Leu Pro Gly
625 630 635 640

Thr Ser His Val Leu Gly Ala Tyr Ala Val Asp Asn Thr Cys Val Val
645 650 655

Arg Ser Arg Asp Val Ser Thr Thr Gly Ser Thr Ser Glu Gly Ala Val
660 665 670

Thr Ala Val Ala Ile Cys Cys Arg Ser Arg His Leu Ala Gln Ala Ser
675 680 685

Gln Glu Leu Gln
690

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o proteína de unión a antígeno que comprende una HCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:1 y una LCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6 para su uso en un método de reducción de la gravedad de la lesión o reducción de área de la lesión esclerótica en al menos un 2 % en un sujeto humano que tiene aterosclerosis, en la que el anticuerpo o proteína de unión a antígeno se administra por vía subcutánea al sujeto en una cantidad terapéuticamente eficaz.
2. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 1, en la que la cantidad terapéuticamente eficaz reduce el área de lesión esclerótica en al menos un 10 %, al menos un 30 % o al menos un 50 %.
- 10 3. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en la que el anticuerpo o proteína de unión a antígeno se administración a una dosis de aproximadamente 75 mg, aproximadamente 150 mg o aproximadamente 300 mg.
4. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el anticuerpo o proteína de unión a antígeno se administra a una dosis inicial de aproximadamente 75 mg o aproximadamente 150 mg cada dos semanas.
- 15 5. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el anticuerpo o proteína de unión a antígeno es Alirocumab.
6. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el sujeto
 - a) ha padecido una apoplejía o infarto de miocardio;
 - 20 b) tiene una enfermedad o trastorno seleccionado del grupo que consiste en diabetes *mellitus* de tipo I, diabetes *mellitus* de tipo II, enfermedad de Kawasaki, enfermedad inflamatoria crónica e hipertensión;
 - c) tiene hipercolesterolemia familia heterocigótica (heFH); y/o
 - d) tiene una forma de hipercolesterolemia que no es hipercolesterolemia familiar (noFH).
7. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que el sujeto tiene un nivel elevado de un marcador inflamatorio.
- 25 8. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 7, en la que el marcador inflamatorio es proteína C-reactiva o una citocina inflamatoria.
9. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que el sujeto está en tratamiento con otro agente modificador de lípidos antes y/o durante la administración del anticuerpo o proteína de unión a antígeno.
- 30 10. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 9, en la que el agente terapéutico modificador de lípidos se selecciona del grupo que consiste en una estatina, ezetimibe, un fibrato, niacina, un ácido graso omega-3 y una resina de ácidos biliares.
- 35 11. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 10, en la que la estatina se selecciona del grupo que consiste en cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina y pravastatina.

Figura 1

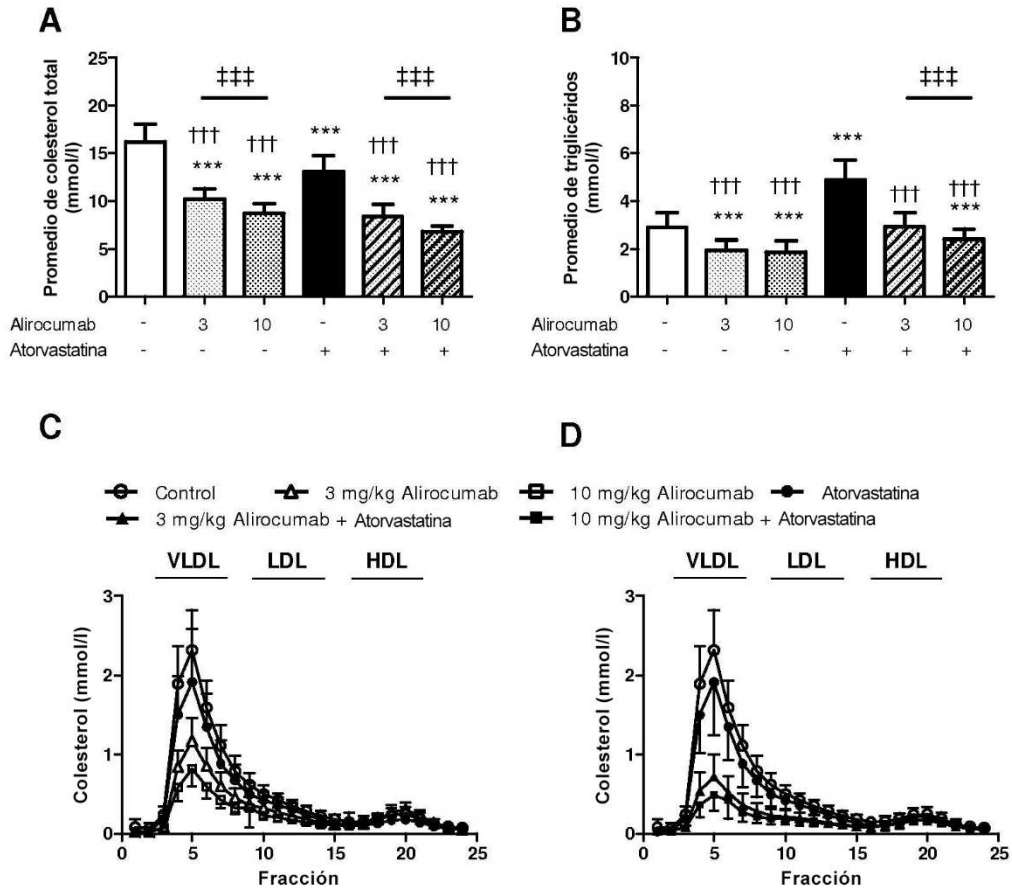
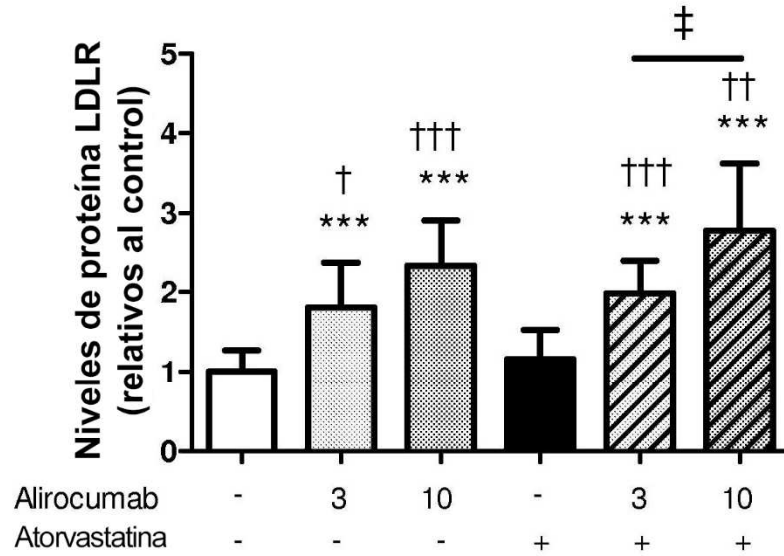


Figura 2

A



B

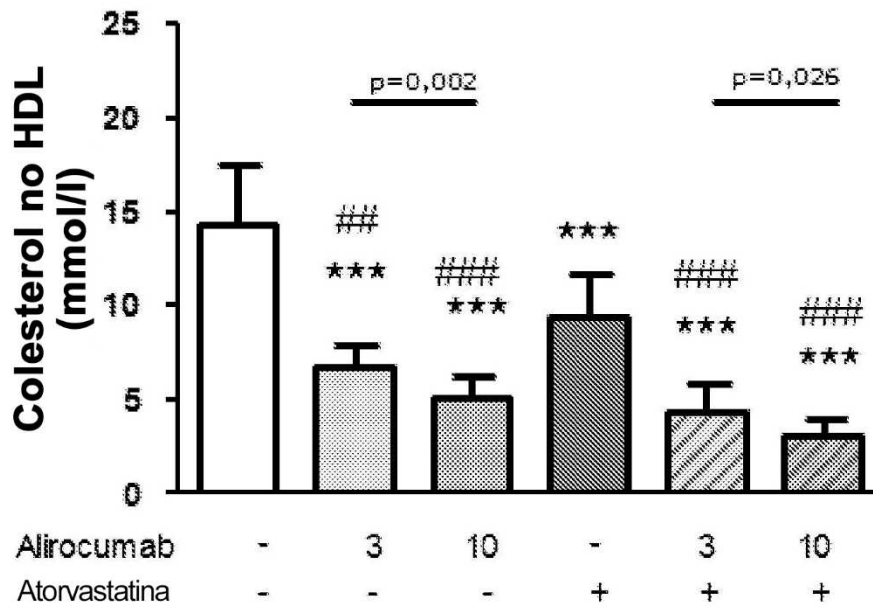


Figura 3

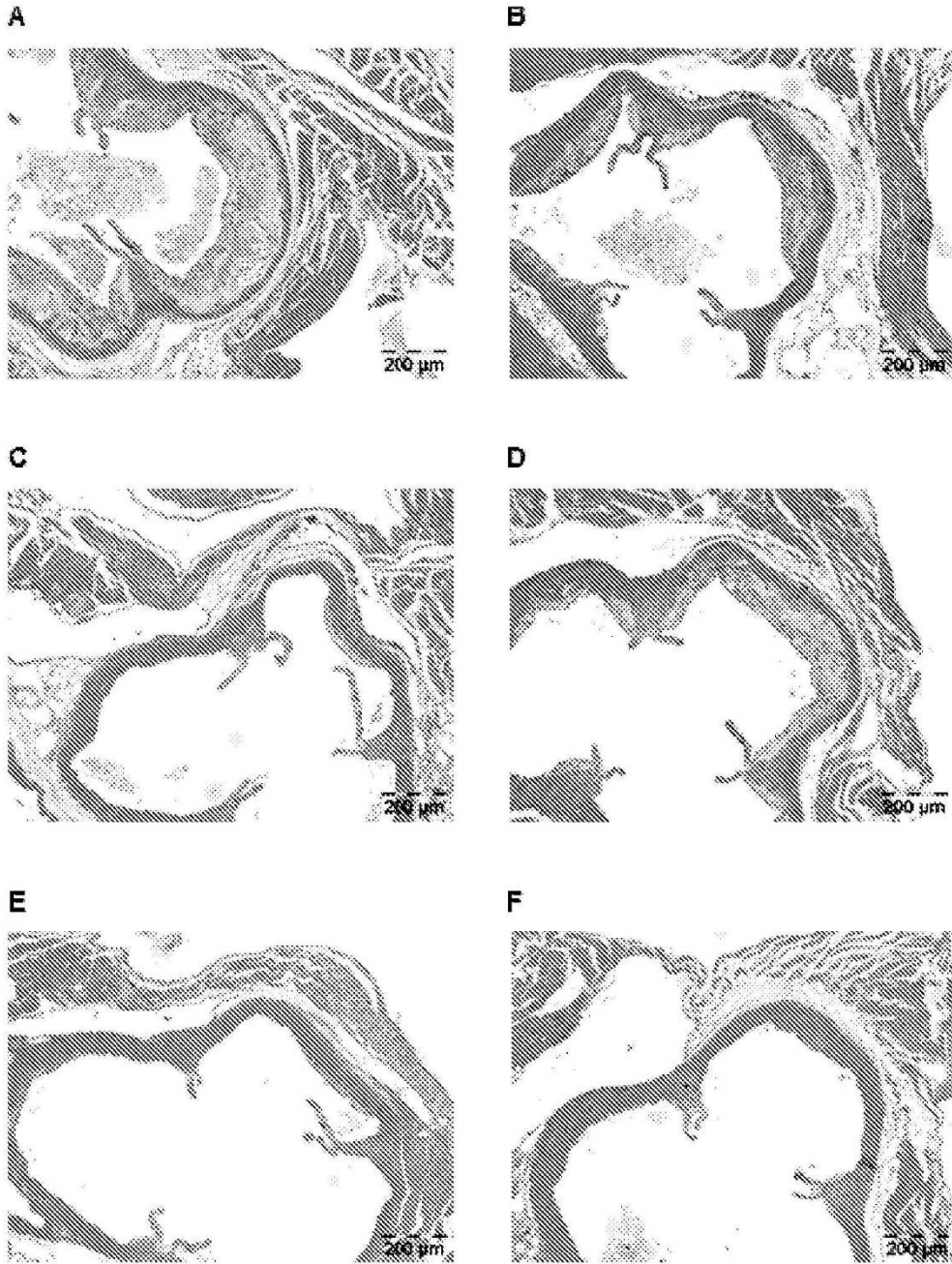


Figura 4

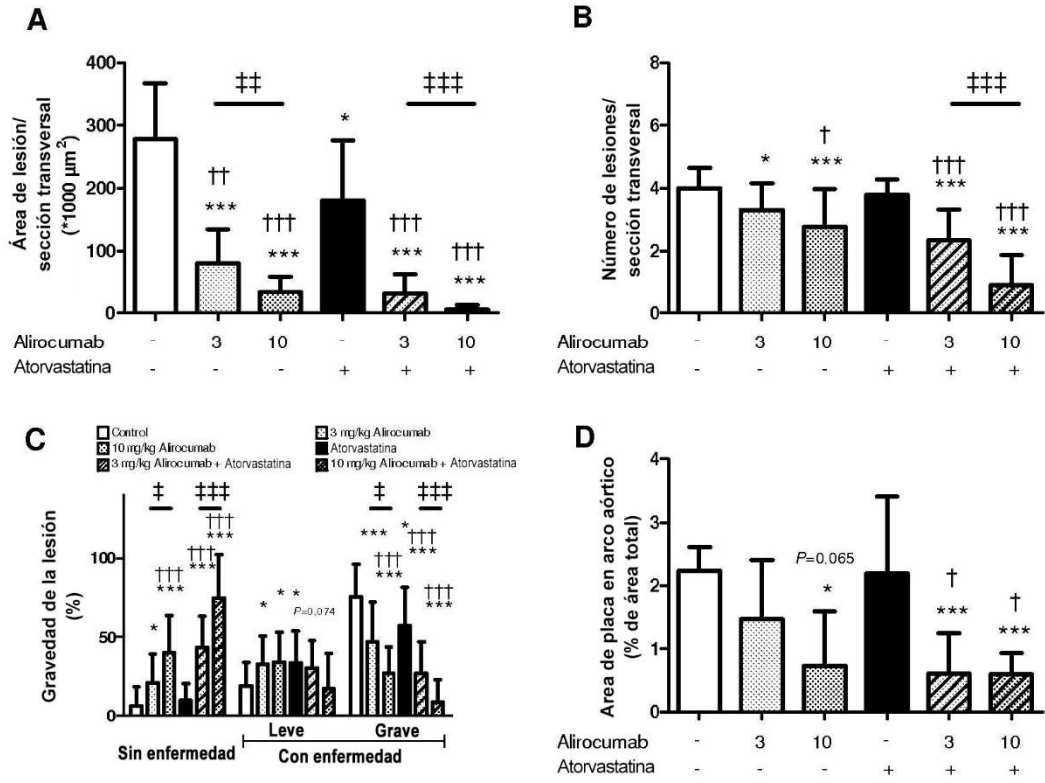


Figura 5

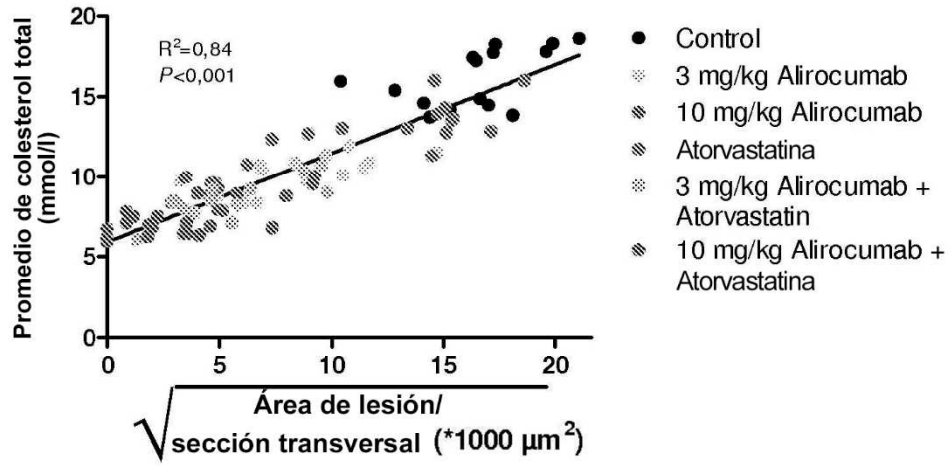


Figura 6

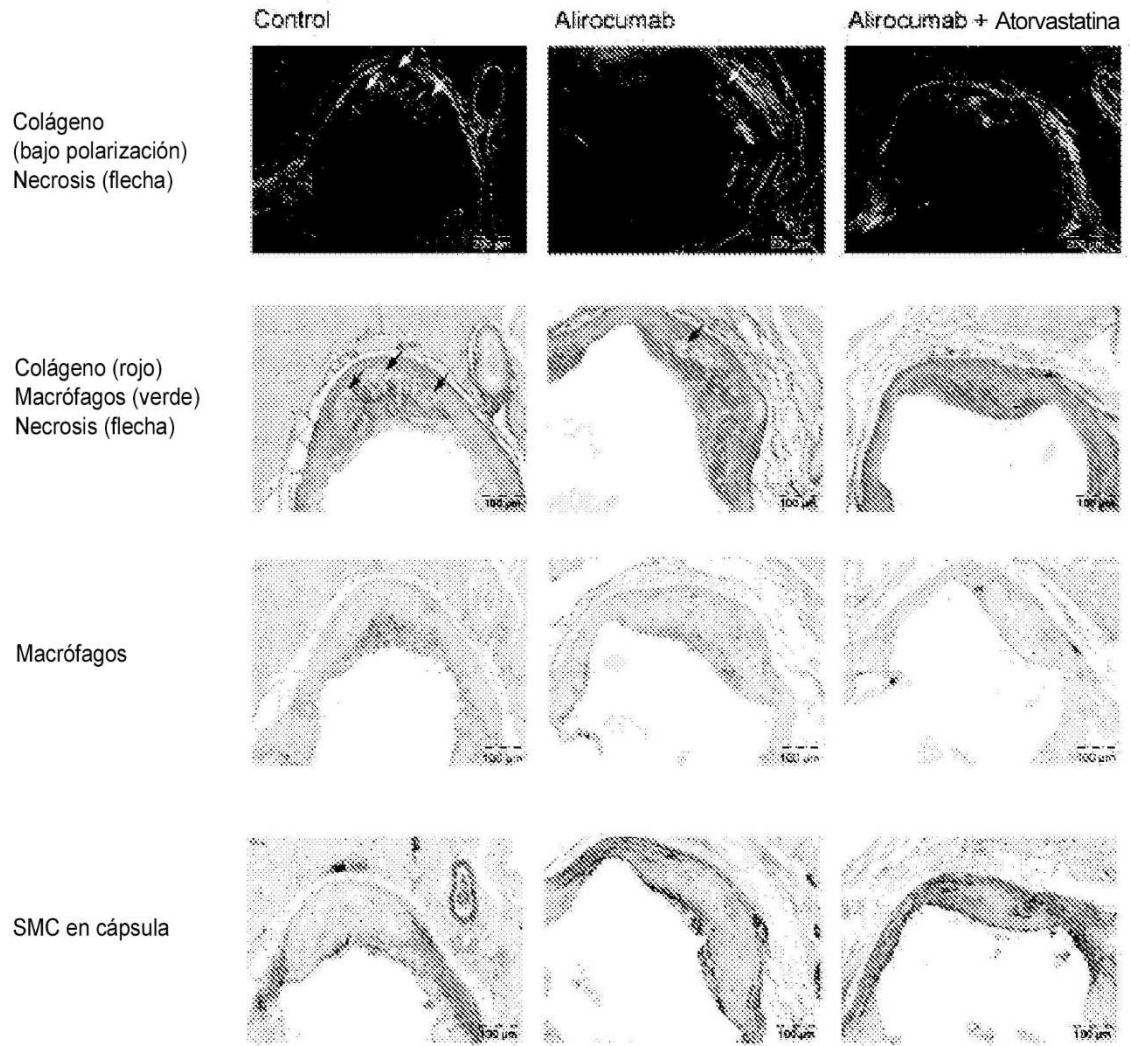


Figura 7

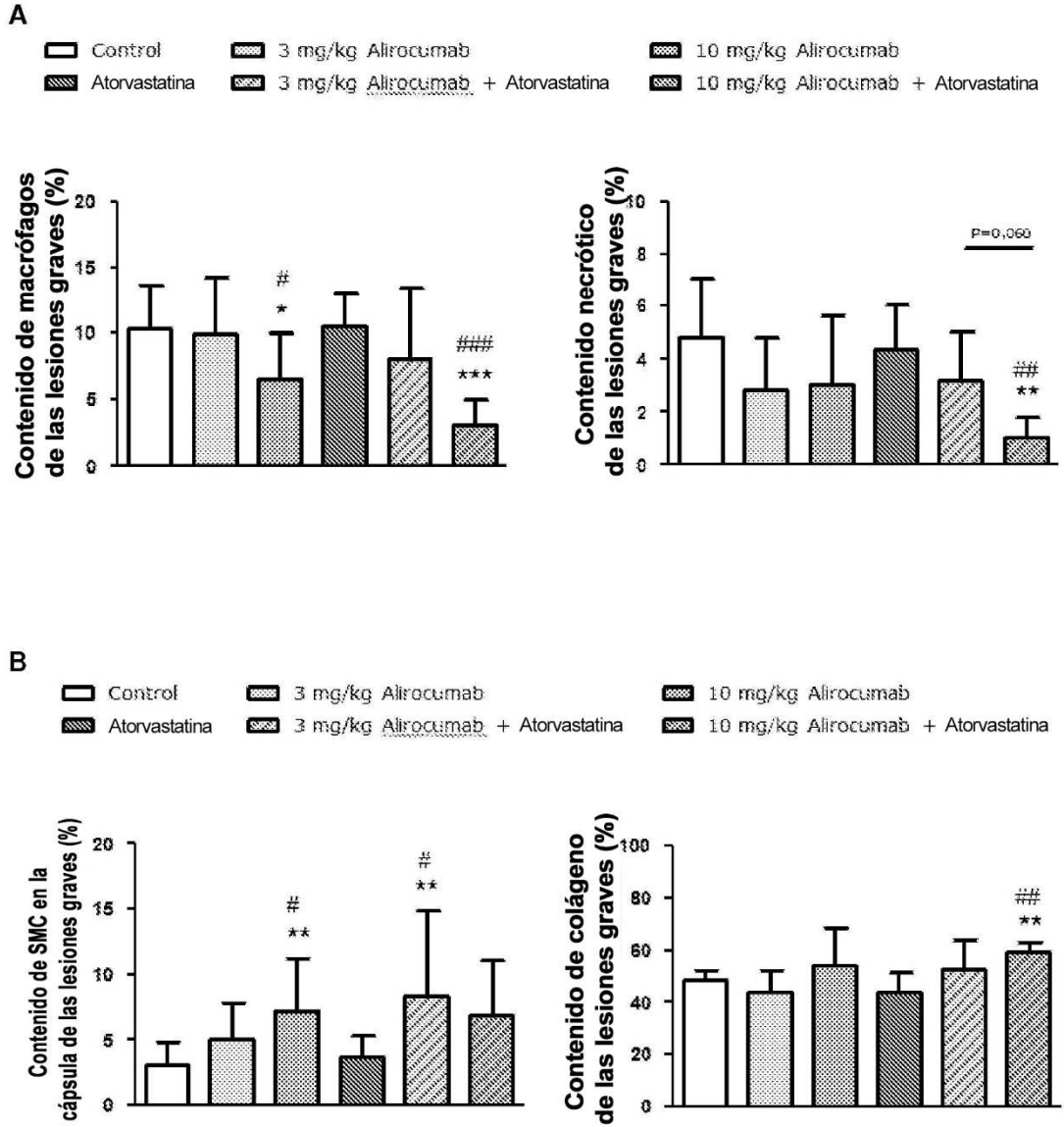


Figura 7 (cont.)

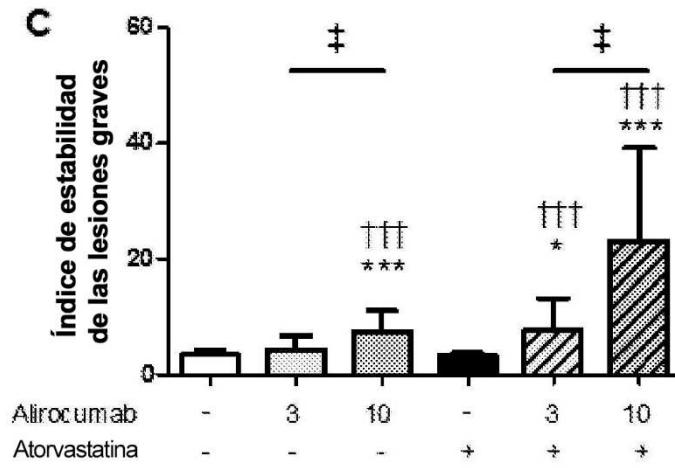


Figura 8

