



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 886 443**

⑮ Int. Cl.:

**C07K 16/28** (2006.01)  
**A61K 39/00** (2006.01)  
**A61P 37/06** (2006.01)  
**C12N 15/02** (2006.01)  
**C12N 15/09** (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- ⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.08.2015** **PCT/JP2015/072162**  
⑦ Fecha y número de publicación internacional: **11.02.2016** **WO16021621**  
⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.08.2015** **E 15829154 (2)**  
⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.08.2021** **EP 3178929**

⑮ Título: **Nuevo anticuerpo anti-Ig(beta) humana**

⑩ Prioridad:

**06.08.2014 JP 2014160141**

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**20.12.2021**

⑮ Titular/es:

**ASTELLAS PHARMA INC. (100.0%)**  
5-1, Nihonbashi-Honcho 2-chome, Chuo-ku  
Tokyo 103-8411, JP

⑮ Inventor/es:

**YAMAJUKU, DAISUKE;**  
**SEKI, MUTSUMI;**  
**HONDA, TAKASHI;**  
**KUBO, SATOSHI;**  
**SOGA, SHINJI y**  
**MORINAKA, AKIFUMI**

⑮ Agente/Representante:

**BERTRÁN VALLS, Silvia**

**Observaciones:**

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

**ES 2 886 443 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

Nuevo anticuerpo anti-Ig(beta) humana

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un nuevo anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que es útil como principio activo de una composición farmacéutica.

10 **Técnica anterior**

Un receptor de células B (BCR) se compone de moléculas de inmunoglobulina de membrana (mlg) ensambladas con heterodímeros de Ig $\alpha$  (CD79A) e Ig $\beta$  (CD79B). Un antígeno se une a la mlg y permite la agregación de los receptores, y una subunidad Ig $\alpha$ /Ig $\beta$  transmite una señal al interior de una célula B (Mol. Immunol., vol. 41, págs. 599-613, 2004).

15 En cuanto a la familia de proteínas de un receptor de Fc $\gamma$  (Fc $\gamma$ R), que es un receptor de Fc contra un anticuerpo IgG, se han notificado Fc $\gamma$ RIa (CD64A), Fc $\gamma$ RIIa (CD32A) y Fc $\gamma$ RIIIa (CD16A), que tienen funciones inmunoactivas, y Fc $\gamma$ RIIb (CD32B), que tiene funciones inmunosupresoras. Se ha notificado que, cuando se reticulan el BCR y Fc $\gamma$ RIIb en células B a través de un inmunocomplejo de IgG, se suprime una actividad de las células B y, por tanto, se suprime la proliferación de las células B y la producción de anticuerpos (Nat. Rev. Immunol., vol. 10, págs. 328-343, 2010; Nat. Rev. Immunol., vol. 8, págs. 34-47, 2008; Nat. Rev. Immunol., vol. 2, págs. 580-592, 2002).

20 Se ha notificado que el control de la actividad de las células B a través de tal Fc $\gamma$ RIIb está profundamente implicado en la patología de enfermedades autoinmunitarias tales como artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico.

25 En cuanto a la relación con la artritis reumatoide, se ha notificado que, en un ratón con genes inactivados de Fc $\gamma$ RIIb, la inmunidad humoral no está controlada de manera apropiada (Nature, vol. 379, págs. 346-349, 1996; J. Immunol., vol. 163, págs. 618-622, 1999) y la susceptibilidad a la artritis inducida por colágeno está aumentada (J. Exp. Med., vol. 189, págs. 187-194, 1999). Además, se ha confirmado que la expresión de Fc $\gamma$ RIIb en células B de memoria de pacientes con artritis reumatoide está disminuida (J. Immunol., vol. 190, págs. 6015-6022, 2013).

30 En cuanto a la relación con el lupus eritematoso sistémico, se ha notificado que la aparición de una enfermedad de lupus eritematoso sistémico se suprime significativamente en un ratón transgénico en el que se potencia la expresión de Fc $\gamma$ RIIb específicamente en células B (J. Exp. Med., vol. 205, págs. 883-895, 2008). Se ha confirmado que, con respecto a un ratón con genes inactivados de Fc $\gamma$ RIIb, aparecen células plasmáticas o células B autorreactivas y se desarrolla espontáneamente el estado de enfermedad de lupus eritematoso sistémico (Immunity, vol. 13, págs. 277-285, 2000; J. Exp. Med., vol. 207, págs. 2767-2778, 2010). Además, se han notificado una disminución de la expresión de Fc $\gamma$ RIIb en células B de memoria de pacientes con lupus eritematoso sistémico (J. Exp. Med., vol. 203, págs. 2157-2164, 2006; J. Immunol., vol. 178, págs. 3272-3280, 2007) y la relevancia entre el polimorfismo genético en una región transmembrana celular de Fc $\gamma$ RIIb y la frecuencia de apariciones de lupus eritematoso sistémico (Arthritis Rheum., vol. 46, págs. 1242-1254, 2002).

35 Además, la supresión de la producción de anticuerpos controlando la actividad de células B a través de Fc $\gamma$ RIIb es eficaz para tratar una enfermedad autoinmunitaria en la que un autoanticuerpo está relacionado con el estado patológico.

40 La púrpura trombocitopénica idiopática es una enfermedad autoinmunitaria en la que un autoanticuerpo antiplaquetario de un paciente provoca la destrucción de las plaquetas (Autoimmun. Rev., vol. 13, págs. 577-583, 2014). Se ha notificado que se induce trombocitopenia en un animal al que se le administra un anticuerpo antiplaquetario, (Br. J. Haematol., vol. 167, págs. 110-120, 2014), y una disminución en un autoanticuerpo es eficaz para el tratamiento de púrpura trombocitopénica idiopática (Ther. Apher. Dial., vol. 16, págs. 311-320, 2012; Lupus, vol. 22, págs. 664-674, 2013).

45 Por tanto, si se pudiese desarrollar un anticuerpo monoclonal que reticule el BCR y Fc $\gamma$ RIIb y aumente una función inmunosupresora de Fc $\gamma$ RIIb, se espera que tal anticuerpo monoclonal sea útil para la prevención o el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias tales como artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y púrpura trombocitopénica idiopática.

50 Como anticuerpo que reticula el BCR y Fc $\gamma$ RIIb, se notifican DART, que es un anticuerpo biespecífico contra Ig $\beta$  y Fc $\gamma$ RIIb (documento de patente 1 y documento no de patente 1), y el anticuerpo anti-CD19 S267E/L328F, que tiene una región variable que se une a CD19 que es una parte de un complejo de BCR y una región Fc cuya afinidad por Fc $\gamma$ RIIb está aumentada (documento de patente 2 y documentos no de patente 2 y 3). De entre estos, se examina específicamente el anticuerpo anti-CD19 S267E/L328F, y se confirman su acción inhibidora con respecto a la actividad de células B en las que se estimula el BCR y su acción de reducción de la concentración del título de anticuerpo en sangre humana en un ratón al que se le trasplantan células mononucleares de sangre periférica (PBMC) humanas

(documento de patente 2 y documentos no de patente 2 y 3).

El documento WO2009/099728 A1 se refiere a un anticuerpo humanizado y conjugado contra CD79b que es útil para el tratamiento de un tumor hematopoyético en mamíferos.

5 El documento JP2013540696A describe moléculas de diacuerpo para el tratamiento de varias enfermedades y trastornos. Como posibles epítopos, se mencionan diversos tipos de receptores para las regiones Fc de isotipos de inmunoglobulina (por ejemplo, CD64, CD32, CD16).

10 El documento WO2008/150494 se refiere a inmunoglobulinas que se unen a células Fc $\kappa$ RIIb $^+$  y acoplan conjuntamente el antígeno en la superficie celular y un Fc $\gamma$ RIIb en la superficie celular, tal como un anticuerpo anti-79b-S267E/L328F.

### Técnica relacionada

#### 15 Documentos de patente

[Documento de patente 1] WO 2012/018687

[Documento de patente 2] WO 2008/150494

#### 20 Documentos no de patente

[Documento no de patente 1] Arthritis & Rheumatism (US) 2010; 62(7): 1933-1943

25 [Documento no de patente 2] Molecular Immunology (US) 2008; 45(15): 3926-3933

[Documento no de patente 3] The Journal of Immunology (US) 2011; 186(7): 4223-4233

### Divulgación de la invención

#### 30 Problemas que van a resolverse mediante la invención

Un objeto de la presente invención es proporcionar un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que reticle el BCR y Fc $\gamma$ RIIb y tenga una función inmunosupresora más potenciada que la de un anticuerpo de la técnica anterior.

#### 35 Medios para resolver los problemas

Como resultado de la investigación intensiva sobre la preparación de un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana por parte de los presentes inventores, se prepararon una pluralidad de anticuerpos anti-Ig $\beta$  humanas que comprenden una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 31 a 35 de SEQ ID NO: 2, una CDR2 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 50 a 65 de SEQ ID NO: 2 y una CDR3 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 98 a 108 de SEQ ID NO: 2, y una región variable de cadena ligera que comprende una CDR1 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 24 a 38 de SEQ ID NO: 4, una CDR2 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 54 a 60 de SEQ ID NO: 4 y una CDR3 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 93 a 101 de SEQ ID NO: 4, en los que una región constante de cadena pesada del anticuerpo es una región constante de Ig $\gamma$ 1 humana que tiene las mutaciones de aminoácidos S239D, H268D y L328W (ejemplos 1 a 3), y se halló que estos anticuerpos se unen a Ig $\beta$  humana en células B humanas (ejemplos 4 y 5) e inhiben la activación de las células B humanas inducida por un anticuerpo anti-IgM (ejemplo 6). Como resultado, se proporciona el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana anteriormente descrito, completando de ese modo la presente invención. Además, se halló que el anticuerpo suprime el título de anticuerpo humano en plasma en un modelo de ratón NOG de transferencia de PBMC humanas (ejemplo 7) y suprime un anticuerpo específico de antígeno sin verse afectado por los títulos de anticuerpo total en plasma en un modelo de mono de sensibilización de antígenos con TTx (ejemplo 8).

55 La invención se divulga en las reivindicaciones adjuntas.

### Efectos de la invención

60 Un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención tiene una excelente acción inmunosupresora por medio de la inhibición de la activación de células B, y puede usarse como agente para prevenir o tratar enfermedades autoinmunitarias tales como lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide y púrpura trombocitopénica idiopática.

**Breve descripción de los dibujos**

La figura 1 muestra el efecto inhibidor de un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humanizado frente a la proliferación celular inducida por el anticuerpo anti-IgM en células B humanas. El eje vertical indica la tasa de proliferación de células B y el eje horizontal indica la concentración de anticuerpo añadido ( $\mu$ g/ml).

- 5 La figura 2 muestra la acción inhibidora de un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humanizado frente al aumento de los títulos de anticuerpo de IgM humana en plasma inducido mediante la transferencia de PBMC humanas a un ratón NOG. El eje vertical indica el título de anticuerpo de IgM humana en plasma ( $\mu$ g/ml) y el eje horizontal indica el tiempo (día) desde la transferencia de las PBMC humanas al ratón NOG.
- 10 La figura 3 muestra la acción inhibidora de un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humanizado frente al aumento de los títulos de anticuerpo de IgE humana en plasma inducido mediante la transferencia de PBMC humanas a un ratón NOG. El eje vertical indica el título de anticuerpo de IgE humana en plasma (ng/ml) y el eje horizontal indica el tiempo (día) desde la transferencia de las PBMC humanas al ratón NOG.
- 15 La figura 4 muestra la acción inhibidora de un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humanizado frente al aumento de anticuerpo anti-toxoide tetánico adsorbido en plasma provocado mediante la inmunización de un mono con toxoide tetánico adsorbido. El eje vertical indica el título de anticuerpo anti-toxoide tetánico adsorbido en plasma (U/ml) y el eje horizontal indica el tiempo (día) desde la inmunización del mono con toxoide tetánico adsorbido.
- 20 La figura 5 muestra la acción del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humanizado frente al título de anticuerpo de IgM total en plasma del mono inmunizado mediante el toxoide tetánico adsorbido. El eje vertical indica el título de anticuerpo de IgM total en plasma (U/ml) y el eje horizontal indica el tiempo (día) desde la inmunización del mono con toxoide tetánico adsorbido.
- 25 La figura 6 muestra la acción del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humanizado frente al título de anticuerpo de IgA total en plasma del mono inmunizado mediante el toxoide tetánico adsorbido. El eje vertical indica el título de anticuerpo de IgA total en plasma (U/ml) y el eje horizontal indica el tiempo (día) desde la inmunización del mono con toxoide tetánico adsorbido.
- 30 La figura 7 muestra la acción del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humanizado frente al título de anticuerpo de IgG total en plasma del mono inmunizado mediante el toxoide tetánico adsorbido. El eje vertical indica el título de anticuerpo de IgG total en plasma (U/ml) y el eje horizontal indica el tiempo (día) desde la inmunización del mono con toxoide tetánico adsorbido.

**35 Realizaciones para llevar a cabo la invención**

A continuación en el presente documento, se describirá con detalle la presente invención.

- 40 Hay cinco clases de IgG, IgM, IgA, IgD e IgE en un anticuerpo. La estructura básica de una molécula de anticuerpo se compone de cadenas pesadas que tienen un peso molecular de 50000 a 70000 y cadenas ligeras que tienen un peso molecular de 20000 a 30000 en cada una de las clases en común. La cadena pesada consiste habitualmente en una cadena de polipéptido que comprende aproximadamente 440 aminoácidos, tiene una estructura distintiva para cada una de las clases y se denomina Ig $\gamma$ , Ig $\mu$ , Ig $\alpha$ , Ig $\delta$  e Ig $\epsilon$ , correspondiente a IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente. Además, están presentes cuatro subclases de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 en IgG, y las cadenas pesadas respectivamente correspondientes a las mismas se denominan Ig $\gamma$ 1, Ig $\gamma$ 2, Ig $\gamma$ 3 e Ig $\gamma$ 4. La cadena ligera consiste habitualmente en una cadena de polipéptido que comprende 220 aminoácidos, de la cual se conocen dos tipos, tipo L y tipo K, y se denominan Ig $\lambda$  y Ig $\kappa$ . En una configuración de péptido de la estructura básica de las moléculas de anticuerpo, dos cadenas pesadas homólogas y dos cadenas ligeras homólogas están unidas mediante enlaces disulfuro (enlace S-S) y enlaces no covalentes, y el peso molecular de las mismas es de 150000 a 190000. Dos tipos de cadenas ligeras pueden emparejarse con cualquier cadena pesada. Las moléculas de anticuerpo respectivas consisten normalmente en dos cadenas ligeras idénticas y dos cadenas pesadas idénticas.

- 55 Con respecto a los enlaces S-S intracatenarios, cuatro de los enlaces S-S están presentes en la cadena pesada (cinco en las cadenas  $\mu$  y  $\epsilon$ ) y dos de ellos están presentes en la cadena ligera; se forma un bucle por cada de 100 a 110 residuos de aminoácidos, y esta estructura estérica es similar entre los bucles y se denomina unidad estructural o dominio. El dominio ubicado en el lado amino-terminal (lado N-terminal) tanto en la cadena pesada como en la cadena ligera, cuya secuencia de aminoácidos no es constante ni siquiera en el caso de una muestra de la misma clase (subclase) del mismo tipo de animal, se denomina región variable, y los dominios respectivos se denominan región variable de cadena pesada y región variable de cadena ligera. La secuencia de aminoácidos del lado carboxilo-terminal (lado C-terminal) de la región variable es prácticamente constante en cada clase o subclase y se denomina región constante.

- 60 Un sitio de unión a antígeno de un anticuerpo se compone de la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera, y la especificidad de unión depende de la secuencia de aminoácidos de este sitio. Por otro lado, las actividades biológicas tales como la unión a complementos y a diversas células refleja diferencias en las estructuras

de región constante entre cada clase de Ig. Se entiende que la variabilidad de las regiones variables de las cadenas ligeras y las cadenas pesadas está principalmente limitada a tres regiones hipervariables pequeñas presentes en ambas cadenas, y estas regiones se denominan regiones determinantes de complementariedad (CDR: CDR1, CDR2 y CDR3 desde el lado N-terminal). La porción restante de la región variable se denomina región de entramado (FR) y es relativamente constante.

5 <Anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención>

10 El anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención incluye un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que tiene las siguientes 15 características.

15 Un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 que 20 consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 31 a 35 de SEQ ID NO: 2, una CDR2 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 50 a 65 de SEQ ID NO: 2 y una CDR3 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 98 a 108 de SEQ ID NO: 2, una región variable 25 de cadena ligera que comprende una CDR1 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 24 a 38 de SEQ ID NO: 4, una CDR2 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 54 a 60 de SEQ ID NO: 4 y una CDR3 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 93 a 101 de SEQ ID NO: 4, y una región constante de cadena pesada que es una región constante de Ig $\gamma$ 1 humana que tiene las mutaciones de aminoácidos S239D, H268D y L328W.

25 En una realización, el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención es un anticuerpo humanizado. El "anticuerpo humanizado" en la presente memoria descriptiva significa un anticuerpo en una forma que comprende 30 CDR derivadas de un anticuerpo de ratón y otras porciones de anticuerpo derivadas de un anticuerpo humano. En la técnica se conoce un método para preparar un anticuerpo humanizado, y puede prepararse con referencia a los documentos de la USP con n.<sup>os</sup> 5225539, 6180370 y similares.

35 En una realización, el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención es un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana descrito en uno cualquiera de los siguientes 1) a 3):

30 1) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 119 de SEQ ID NO: 2, una región variable de 35 cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 112 de SEQ ID NO: 4 y una región constante de cadena pesada que es una región constante de Ig $\gamma$ 1 humana que tiene las mutaciones de aminoácidos S239D, H268D y L328W;

40 2) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 119 de SEQ ID NO: 6, una región variable de 45 cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 112 de SEQ ID NO: 8 y una región constante de cadena pesada que es una región constante de Ig $\gamma$ 1 humana que tiene las mutaciones de aminoácidos S239D, H268D y L328W; y

45 3) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 119 de SEQ ID NO: 10, una región variable de cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 112 de SEQ ID NO: 12 y una región constante de cadena pesada que es una región constante de Ig $\gamma$ 1 humana que tiene las mutaciones de aminoácidos S239D, H268D y L328W.

50 El número de residuo con respecto a la introducción de mutaciones de aminoácidos en una región constante de 55 anticuerpo usado en la presente memoria descriptiva sigue el índice EU (Kabat *et al.* 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5<sup>a</sup> ed., United States Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda). S239D es la sustitución de la serina en la posición 239<sup>a</sup> del aminoácido según el índice EU de Kabat *et al.* en la región constante de Ig $\gamma$ 1 humana por ácido aspártico. H268D es la sustitución de la histidina en la posición 268<sup>a</sup> del aminoácido según el índice EU de Kabat *et al.* en la región constante de Ig $\gamma$ 1 humana por ácido aspártico. L328W es la sustitución de la 55 leucina en la posición 328<sup>a</sup> del aminoácido según el índice EU de Kabat *et al.* en la región constante de Ig $\gamma$ 1 humana por triptófano. Los ejemplos de la región constante de Ig $\gamma$ 1 humana que tiene las mutaciones de aminoácidos S239D, H268D y L328W incluyen una región constante de Ig $\gamma$ 1 humana que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 120 a 449 de SEQ ID NO: 2.

60 Como región constante de cadena ligera del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención, puede seleccionarse una cualquiera de las regiones constantes de Ig $\lambda$  e Ig $\kappa$ , pero es preferible una región constante de Ig $\kappa$  humana. Los ejemplos de la región constante de Ig $\kappa$  humana incluyen una región constante de Ig $\kappa$  humana que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 113 a 218 de SEQ ID NO: 4.

En una realización, el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención es un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana seleccionado de uno cualquiera de los siguientes i) a iii):

5 i) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 2 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4;

10 ii) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8; y

15 iii) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 10 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12.

15 Se sabe que cuando un anticuerpo se expresa en células, el anticuerpo se modifica después de la traducción. Los ejemplos de la modificación postraduccional incluyen escisión de la lisina en el extremo C-terminal de la cadena pesada mediante una carboxipeptidasa; modificación de glutamina o ácido glutámico en el extremo N-terminal de la cadena pesada y la cadena ligera a ácido piroglutámico mediante piroglutamilación; glicosilación; oxidación; desamidación; y glicación, y se sabe que tales modificaciones postraduccionales se producen en diversos anticuerpos (Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 97, págs. 2426-2447, 2008).

25 El anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención incluye un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que ha experimentado modificación postraduccional. Los ejemplos del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención que experimenta modificación postraduccional incluyen anticuerpos anti-Ig $\beta$  humana que han experimentado piroglutamilación en el extremo N-terminal de la región variable de cadena pesada y/o deleción de lisina en el extremo C-terminal de la cadena pesada. En el campo se sabe que tal modificación postraduccional debida a piroglutamilación en el extremo N-terminal y deleción de lisina en el extremo C-terminal no tiene ninguna influencia sobre la actividad del anticuerpo (Analytical Biochemistry, vol. 348, págs. 24-39, 2006).

30 30 Por ejemplo, los anticuerpos anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención incluyen un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana descrito en uno cualquiera de los siguientes 1) a 3):

35 1) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, en la que el ácido glutámico de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico y/o la lisina de número de aminoácido 449 está delecionada, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4;

40 2) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, en la que el ácido glutámico de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico y/o la lisina de número de aminoácido 449 está delecionada, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8; y

45 3) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, en la que el ácido glutámico de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico y/o la lisina de número de aminoácido 449 está delecionada, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12.

50 50 En una realización, el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención es un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana seleccionado de uno cualquiera de los siguientes i) a iii):

55 i) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 2 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4;

60 ii) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 6, en la que la glutamina de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8; y

65 iii) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 10 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12.

65 65 Cualquier experto en la técnica puede preparar una forma fusionada de un anticuerpo y otro péptido u otra proteína y

también puede preparar una forma modificada a la que se le ha unido un agente modificador basándose en la presente invención, y el anticuerpo de la presente invención incluye el anticuerpo en estas formas. Otros péptidos o proteínas usados para la fusión no están particularmente limitados siempre que la actividad de unión del anticuerpo no disminuya, y los ejemplos de los mismos incluyen albúmina sérica humana, diversos péptidos etiqueta, péptido de motivo de hélice artificial, proteínas de unión a maltosa, glutatión S-transferasa, diversas toxinas, otros péptidos o proteínas capaces de fomentar la multimerización y similares. El agente modificador usado para la modificación no está particularmente limitado siempre que la actividad de unión del anticuerpo no disminuya, y los ejemplos del mismo incluyen polietilenglicol, cadenas de azúcares, fosfolípidos, liposomas, compuestos de bajo peso molecular y similares.

5 10 El "anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana" en la presente memoria descriptiva significa un anticuerpo que se une a una Ig $\beta$  humana. Si el "anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana" se une a una Ig $\beta$  humana se confirma usando un método de medición de la actividad de unión conocido. Los ejemplos del método de medición de la actividad de unión incluyen un método de ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) y similares. En el caso de usar ELISA, por ejemplo, la proteína Ig $\beta$  humana-Flag (por ejemplo, codificada por la secuencia de bases de SEQ ID NO: 13) se solidifica sobre la placa 15 de ELISA y se añade a la misma un anticuerpo de prueba para que reaccionen. Después de la reacción, se hace reaccionar un anticuerpo secundario, tal como un anticuerpo anti-IgG, marcado con una enzima tal como peroxidasa de rábano picante (HRP) o similares, y se elimina por lavado, y después es posible confirmar si el anticuerpo de prueba 20 se une a la Ig $\beta$  humana identificando la unión del anticuerpo secundario mediante la medición de la actividad usando un reactivo que detecta la actividad (por ejemplo, en el caso de marcaje con HRP, sustrato de ELISA de quimioluminiscencia BM (POD) (Roche Diagnostics Inc.)). Como método de medición específico, puede usarse el método descrito en el ejemplo 4 a continuación.

25 El anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención incluye, además de unirse a la Ig $\beta$  humana, un anticuerpo que se une a Ig $\beta$  derivada de otros animales (por ejemplo, Ig $\beta$  de mono), siempre que el anticuerpo se una a la Ig $\beta$  humana.

30 35 Como método para evaluar la actividad del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención, puede evaluarse la actividad de unión en células B humanas o la actividad de inhibición de la activación de las células B humanas inducidas por estimulación con BCR. Como métodos de evaluación de tal actividad, pueden usarse los métodos descritos en los ejemplos 5 y 6 a continuación. Preferiblemente, el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención tiene una actividad de unión a Ig $\beta$  humana y de inhibición de la activación de células B humanas inducida por la estimulación con BCR.

40 45 El anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención puede prepararse fácilmente por un experto en la técnica usando un método conocido en el campo, basándose en la información de secuencia de la cadena pesada y la cadena ligera del anticuerpo de la presente invención, que se divulga en la presente memoria descriptiva. El anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención no está particularmente limitado, pero puede producirse según el método descrito en la sección de <Método de producción del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención y anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana producido mediante el método> descrita a continuación.

50 55 El anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención se purifica adicionalmente según sea necesario, se formula según un método convencional y puede usarse para la prevención o el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias tales como lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, púrpura trombocitopénica idiopática, miastenia grave, enfermedad de Graves, neuromielitis óptica, anemia hemolítica autoinmunitaria, pénfigo, síndrome de anticuerpos antifosfolípidicos, vasculitis asociada a ANCA, síndrome de Sjögren, enfermedad de Hashimoto, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica o síndrome de fatiga crónica.

60 <Polinucleótido de la presente invención>

65 70 El polinucleótido de la presente invención incluye un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención y un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención.

75 80 En una realización, el polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención es un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 2, un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6 o un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 10.

85 90 Los ejemplos del polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 2 incluyen un polinucleótido que comprende la secuencia de bases mostrada en SEQ ID NO: 1 ó 15. Los ejemplos del polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6 incluyen un polinucleótido que comprende la secuencia de bases mostrada en SEQ ID NO: 5. Los ejemplos del

polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 10 incluyen un polinucleótido que comprende la secuencia de bases mostrada en SEQ ID NO: 9.

- 5 En una realización, el polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención es un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4, un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8 o un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12.

10 Los ejemplos del polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4 incluyen un polinucleótido que comprende la secuencia de bases mostrada en SEQ ID NO: 3. Los ejemplos del polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8 incluyen un polinucleótido que comprende la secuencia de bases mostrada en SEQ ID NO: 7. Los ejemplos del polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12 incluyen un polinucleótido que comprende la secuencia de bases mostrada en SEQ ID NO: 11.

20 25 El polinucleótido de la presente invención puede prepararse fácilmente por un experto en la técnica usando un método conocido en el campo basándose en la secuencia de bases. Por ejemplo, el polinucleótido de la presente invención puede sintetizarse usando un método de síntesis de genes conocido en el campo. Como método de síntesis de genes, pueden usarse diversos métodos tales como un método de síntesis de genes de anticuerpo descrito en el documento WO90/07861 conocido por un experto en la técnica.

<Vector de expresión de la presente invención>

30 35 Un vector de expresión de la presente invención incluye un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención, un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención y un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención y un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo.

40 45 El vector de expresión usado para expresar el polinucleótido de la presente invención no está particularmente limitado siempre que un polinucleótido que comprende la secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención y/o un polinucleótido que comprende la secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención pueda expresarse en diversas células huésped de células eucariotas (por ejemplo, células animales, células de insecto, células vegetales y levadura) y/o células procariotas (por ejemplo, *Escherichia coli*) y puedan producirse los polipéptidos codificados por estos. Los ejemplos del vector de expresión incluyen vectores plasmídicos, vectores virales (por ejemplo, adenovirus o retrovirus) y similares. Preferiblemente, pueden usarse pEE6.4 o pEE12.4 (Lonza Biologics, Inc.).

50 55 El vector de expresión de la presente invención puede incluir un promotor que se une operativamente al polinucleótido de la presente invención. Los ejemplos del promotor para expresar el polinucleótido de la invención con células animales incluyen un promotor derivado de virus tal como CMV, RSV o SV40, un promotor de actina, un promotor de EF (factor de elongación) 1 $\alpha$  y un promotor de choque térmico. Los ejemplos de promotores para expresar el polinucleótido de la invención por bacterias (por ejemplo, *Escherichia*) incluyen un promotor trp, un promotor lac, un promotor  $\lambda$ PL y un promotor tac. Además, los ejemplos de promotores para expresar el polinucleótido de la invención por levadura incluyen un promotor GAL1, un promotor GAL10, un promotor PH05, un promotor PGK, un promotor GAP y un promotor ADH.

60 65 En el caso de usar una célula animal, una célula de insecto o levadura como célula huésped, el vector de expresión de la presente invención puede comprender un codón de iniciación y un codón de terminación. En este caso, el vector de expresión de la presente invención puede comprender una secuencia potenciadora, una región sin traducir en el lado 5' y el lado 3' de genes que codifican para el anticuerpo de la presente invención o la cadena pesada o la cadena ligera, una secuencia señal secretora, una unión de corte y empalme, un sitio de poliadenilación o una unidad replicable. Cuando se usa *Escherichia coli* como célula huésped, el vector de expresión de la presente invención puede comprender un codón de iniciación, un codón de terminación, una región de terminación y una unidad replicable. En este caso, el vector de expresión de la presente invención puede comprender un marcador de selección (por ejemplo, genes resistentes a tetraciclina, genes resistentes a ampicilina, genes resistentes a kanamicina, genes resistentes a neomicina o genes de dihidrofolato reductasa), que se usa generalmente según la necesidad.

## &lt;Célula huésped transformada de la presente invención&gt;

La célula huésped transformada de la presente invención incluye una célula huésped transformada con el vector de expresión de la presente invención, que se selecciona del grupo que consiste en los siguientes (a) a (d):

- 5 (a) una célula huésped transformada con un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención y un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo;
- 10 (b) una célula huésped transformada con un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención y un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo;
- 15 (c) una célula huésped transformada con un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención; y
- 20 (d) una célula huésped transformada con un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención.

25 Los ejemplos de la célula huésped transformada preferida de la presente invención incluyen una célula huésped transformada con un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención y un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo, y una célula huésped transformada con un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención y un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo.

30 La célula huésped transformada no está particularmente limitada siempre que la célula huésped sea apropiada para el vector de expresión que esté usándose, se transforme con el vector de expresión y pueda expresar el anticuerpo.

35 Los ejemplos de la célula huésped transformada incluyen diversas células tales como células naturales o células artificialmente establecidas que se usan generalmente en el campo de la presente invención (por ejemplo, células animales (por ejemplo, células CHO-K1SV), células de insecto (por ejemplo, Sf9), bacterias (por ejemplo, *Escherichia*), levadura (por ejemplo, *Saccharomyces* o *Pichia*) o similares). Preferiblemente, pueden usarse células cultivadas tales como células CHO-K1SV, células CHO-DG 44, células 293 o células NS0.

40 El método de transformación de la célula huésped no está particularmente limitado, pero, por ejemplo, puede usarse el método de fosfato de calcio o el método de electroporación.

45 <Método de producción del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención y anticuerpo anti-Igβ humana producido mediante el método>

50 El método para producir el anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención incluye un método para producir un anticuerpo anti-Igβ humana cultivando una(s) célula(s) huésped seleccionada(s) del grupo que consiste en los siguientes (a) a (c) para expresar el anticuerpo anti-Igβ humana:

- 55 (a) una célula huésped transformada con un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención y un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo;
- 60 (b) una célula huésped transformada con un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención y un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo; y
- 65 (c) una célula huésped transformada con un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Igβ humana de la presente invención y una célula huésped transformada con un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo.

El método para producir el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención no está particularmente limitado siempre que incluya una etapa de cultivar las células huésped transformadas de la presente invención para expresar el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana. Los ejemplos de las células huésped preferidas usadas en el método incluyen las células huésped transformadas preferidas de la presente invención tal como se describieron anteriormente.

5 La célula huésped transformada puede cultivarse mediante métodos conocidos. Las condiciones de cultivo, por ejemplo, la temperatura, el pH del medio de cultivo y el tiempo de cultivo, se seleccionan de manera apropiada. En el caso en el que la célula huésped sea una célula animal, los ejemplos del medio de cultivo incluyen medio de cultivo MEM complementado con de aproximadamente el 5% al 20% de suero bovino fetal (Science, vol. 130, págs. 432-437, 1959), medio de cultivo DMEM (Virology, vol. 8, págs. 396, 1959), medio de cultivo RPMI1640 (J. Am. Med. Assoc., vol. 199, págs. 519, 1967) y un medio de cultivo 199 (Exp. Biol. Med., vol. 73, págs. 1-8, 1950). El pH del medio de cultivo es preferiblemente de aproximadamente 6 a 8, y el cultivo se lleva a cabo generalmente a de aproximadamente 30°C a 40°C durante de aproximadamente 15 horas a 72 horas mientras se ventila con aire y se agita, si fuera necesario. En el caso en el que la célula huésped sea una célula de insecto, como medio de cultivo, por ejemplo, puede usarse medio de cultivo de Grace (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 82, págs. 8404, 1985) complementado con suero bovino fetal. El pH del medio de cultivo es preferiblemente de aproximadamente 5 a 8, y el cultivo se lleva a cabo generalmente a de aproximadamente 20°C a 40°C durante de aproximadamente 15 horas a 100 horas mientras se ventila con aire y se agita, si fuera necesario. En el caso en el que la célula huésped sea *Escherichia coli* o levadura, como medio de cultivo, por ejemplo, es apropiado un medio de cultivo líquido complementado con una fuente de nutrientes. Es preferible que el medio de cultivo de nutrientes incluya una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno inorgánico o una fuente de nitrógeno orgánico necesaria para el crecimiento de la célula huésped transformada. Los ejemplos de la fuente de carbono incluyen glucosa, dextrano, almidón soluble y sacarosa, y los ejemplos de la fuente de nitrógeno inorgánico o de la fuente de nitrógeno orgánico incluyen sales de amonio, sales de nitrato, aminoácidos, licor de maíz fermentado, peptona, caseína, extracto de carne, harina de soja y extracto de patata. Según se desee, 10 pueden incluirse otros nutrientes (por ejemplo, sales inorgánicas (por ejemplo, cloruro de calcio, dihidrogenofosfato de sodio y cloruro de magnesio), vitaminas) y antibióticos (por ejemplo, tetraciclina, neomicina, ampicilina y kanamicina). El pH del medio de cultivo es preferiblemente de aproximadamente 5 a 8. En el caso en el que la célula huésped sea *Escherichia coli*, los ejemplos preferidos del medio de cultivo incluyen medio de cultivo LB y medio de cultivo M9 (Mol. Clo., Cold Spring Harbor Laboratory, vol. 3, A2.2). El cultivo se lleva a cabo generalmente a de aproximadamente 14°C a 43°C durante de aproximadamente 3 horas a 24 horas mientras se ventila con aire y se agita, si fuera necesario. En el caso en el que la célula huésped sea levadura, como medio de cultivo, por ejemplo, puede usarse medio mínimo de Burkholder (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 77, págs. 4505, 1980). El cultivo se lleva a cabo generalmente a de 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000 1005 1010 1015 1020 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085 1090 1095 1100 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180 1185 1190 1195 1200 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240 1245 1250 1255 1260 1265 1270 1275 1280 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320 1325 1330 1335 1340 1345 1350 1355 1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420 1425 1430 1435 1440 1445 1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480 1485 1490 1495 1500 1505 1510 1515 1520 1525 1530 1535 1540 1545 1550 1555 1560 1565 1570 1575 1580 1585 1590 1595 1600 1605 1610 1615 1620 1625 1630 1635 1640 1645 1650 1655 1660 1665 1670 1675 1680 1685 1690 1695 1700 1705 1710 1715 1720 1725 1730 1735 1740 1745 1750 1755 1760 1765 1770 1775 1780 1785 1790 1795 1800 1805 1810 1815 1820 1825 1830 1835 1840 1845 1850 1855 1860 1865 1870 1875 1880 1885 1890 1895 1900 1905 1910 1915 1920 1925 1930 1935 1940 1945 1950 1955 1960 1965 1970 1975 1980 1985 1990 1995 2000 2005 2010 2015 2020 2025 2030 2035 2040 2045 2050 2055 2060 2065 2070 2075 2080 2085 2090 2095 2100 2105 2110 2115 2120 2125 2130 2135 2140 2145 2150 2155 2160 2165 2170 2175 2180 2185 2190 2195 2200 2205 2210 2215 2220 2225 2230 2235 2240 2245 2250 2255 2260 2265 2270 2275 2280 2285 2290 2295 2300 2305 2310 2315 2320 2325 2330 2335 2340 2345 2350 2355 2360 2365 2370 2375 2380 2385 2390 2395 2400 2405 2410 2415 2420 2425 2430 2435 2440 2445 2450 2455 2460 2465 2470 2475 2480 2485 2490 2495 2500 2505 2510 2515 2520 2525 2530 2535 2540 2545 2550 2555 2560 2565 2570 2575 2580 2585 2590 2595 2600 2605 2610 2615 2620 2625 2630 2635 2640 2645 2650 2655 2660 2665 2670 2675 2680 2685 2690 2695 2700 2705 2710 2715 2720 2725 2730 2735 2740 2745 2750 2755 2760 2765 2770 2775 2780 2785 2790 2795 2800 2805 2810 2815 2820 2825 2830 2835 2840 2845 2850 2855 2860 2865 2870 2875 2880 2885 2890 2895 2900 2905 2910 2915 2920 2925 2930 2935 2940 2945 2950 2955 2960 2965 2970 2975 2980 2985 2990 2995 3000 3005 3010 3015 3020 3025 3030 3035 3040 3045 3050 3055 3060 3065 3070 3075 3080 3085 3090 3095 3100 3105 3110 3115 3120 3125 3130 3135 3140 3145 3150 3155 3160 3165 3170 3175 3180 3185 3190 3195 3200 3205 3210 3215 3220 3225 3230 3235 3240 3245 3250 3255 3260 3265 3270 3275 3280 3285 3290 3295 3300 3305 3310 3315 3320 3325 3330 3335 3340 3345 3350 3355 3360 3365 3370 3375 3380 3385 3390 3395 3400 3405 3410 3415 3420 3425 3430 3435 3440 3445 3450 3455 3460 3465 3470 3475 3480 3485 3490 3495 3500 3505 3510 3515 3520 3525 3530 3535 3540 3545 3550 3555 3560 3565 3570 3575 3580 3585 3590 3595 3600 3605 3610 3615 3620 3625 3630 3635 3640 3645 3650 3655 3660 3665 3670 3675 3680 3685 3690 3695 3700 3705 3710 3715 3720 3725 3730 3735 3740 3745 3750 3755 3760 3765 3770 3775 3780 3785 3790 3795 3800 3805 3810 3815 3820 3825 3830 3835 3840 3845 3850 3855 3860 3865 3870 3875 3880 3885 3890 3895 3900 3905 3910 3915 3920 3925 3930 3935 3940 3945 3950 3955 3960 3965 3970 3975 3980 3985 3990 3995 4000 4005 4010 4015 4020 4025 4030 4035 4040 4045 4050 4055 4060 4065 4070 4075 4080 4085 4090 4095 4100 4105 4110 4115 4120 4125 4130 4135 4140 4145 4150 4155 4160 4165 4170 4175 4180 4185 4190 4195 4200 4205 4210 4215 4220 4225 4230 4235 4240 4245 4250 4255 4260 4265 4270 4275 4280 4285 4290 4295 4300 4305 4310 4315 4320 4325 4330 4335 4340 4345 4350 4355 4360 4365 4370 4375 4380 4385 4390 4395 4400 4405 4410 4415 4420 4425 4430 4435 4440 4445 4450 4455 4460 4465 4470 4475 4480 4485 4490 4495 4500 4505 4510 4515 4520 4525 4530 4535 4540 4545 4550 4555 4560 4565 4570 4575 4580 4585 4590 4595 4600 4605 4610 4615 4620 4625 4630 4635 4640 4645 4650 4655 4660 4665 4670 4675 4680 4685 4690 4695 4700 4705 4710 4715 4720 4725 4730 4735 4740 4745 4750 4755 4760 4765 4770 4775 4780 4785 4790 4795 4800 4805 4810 4815 4820 4825 4830 4835 4840 4845 4850 4855 4860 4865 4870 4875 4880 4885 4890 4895 4900 4905 4910 4915 4920 4925 4930 4935 4940 4945 4950 4955 4960 4965 4970 4975 4980 4985 4990 4995 5000 5005 5010 5015 5020 5025 5030 5035 5040 5045 5050 5055 5060 5065 5070 5075 5080 5085 5090 5095 5100 5105 5110 5115 5120 5125 5130 5135 5140 5145 5150 5155 5160 5165 5170 5175 5180 5185 5190 5195 5200 5205 5210 5215 5220 5225 5230 5235 5240 5245 5250 5255 5260 5265 5270 5275 5280 5285 5290 5295 5300 5305 5310 5315 5320 5325 5330 5335 5340 5345 5350 5355 5360 5365 5370 5375 5380 5385 5390 5395 5400 5405 5410 5415 5420 5425 5430 5435 5440 5445 5450 5455 5460 5465 5470 5475 5480 5485 5490 5495 5500 5505 5510 5515 5520 5525 5530 5535 5540 5545 5550 5555 5560 5565 5570 5575 5580 5585 5590 5595 5600 5605 5610 5615 5620 5625 5630 5635 5640 5645 5650 5655 5660 5665 5670 5675 5680 5685 5690 5695 5700 5705 5710 5715 5720 5725 5730 5735 5740 5745 5750 5755 5760 5765 5770 5775 5780 5785 5790 5795 5800 5805 5810 5815 5820 5825 5830 5835 5840 5845 5850 5855 5860 5865 5870 5875 5880 5885 5890 5895 5900 5905 5910 5915 5920 5925 5930 5935 5940 5945 5950 5955 5960 5965 5970 5975 5980 5985 5990 5995 6000 6005 6010 6015 6020 6025 6030 6035 6040 6045 6050 6055 6060 6065 6070 6075 6080 6085 6090 6095 6100 6105 6110 6115 6120 6125 6130 6135 6140 6145 6150 6155 6160 6165 6170 6175 6180 6185 6190 6195 6200 6205 6210 6215 6220 6225 6230 6235 6240 6245 6250 6255 6260 6265 6270 6275 6280 6285 6290 6295 6300 6305 6310 6315 6320 6325 6330 6335 6340 6345 6350 6355 6360 6365 6370 6375 6380 6385 6390 6395 6400 6405 6410 6415 6420 6425 6430 6435 6440 6445 6450 6455 6460 6465 6470 6475 6480 6485 6490 6495 6500 6505 6510 6515 6520 6525 6530 6535 6540 6545 6550 6555 6560 6565 6570 6575 6580 6585 6590 6595 6600 6605 6610 6615 6620 6625 6630 6635 6640 6645 6650 6655 6660 6665 6670 6675 6680 6685 6690 6695 6700 6705 6710 6715 6720 6725 6730 6735 6740 6745 6750 6755 6760 6765 6770 6775 6780 6785 6790 6795 6800 6805 6810 6815 6820 6825 6830 6835 6840 6845 6850 6855 6860 6865 6870 6875 6880 6885 6890 6895 6900 6905 6910 6915 6920 6925 6930 6935 6940 6945 6950 6955 6960 6965 6970 6975 6980 6985 6990 6995 7000 7005 7010 7015 7020 7025 7030 7035 7040 7045 7050 7055 7060 7065 7070 7075 7080 7085 7090 7095 7100 7105 7110 7115 7120 7125 7130 7135 7140 7145 7150 7155 7160 7165 7170 7175 7180 7185 7190 7195 7200 7205 7210 7215 7220 7225 7230 7235 7240 7245 7250 7255 7260 7265 7270 7275 7280 7285 7290 7295 7300 7305 7310 7315 7320 7325 7330 7335 7340 7345 7350 7355 7360 7365 7370 7375 7380 7385 7390 7395 7400 7405 7410 7415 7420 7425 7430 7435 7440 7445 7450 7455 7460 7465 7470 7475 7480 7485 7490 7495 7500 7505 7510 7515 7520 7525 7530 7535 7540 7545 7550 7555 7560 7565 7570 7575 7580 7585 7590 7595 7600 7605 7610 7615 7620 7625 7630 7635 7640 7645 7650 7655 7660 7665 7670 7675 7680 7685 7690 7695 7700 7705 7710 7715 7720 7725 7730 7735 7740 7745 7750 7755 7760 7765 7770 7775 7780 7785 7790 7795 7800 7805 7810 7815 7820 7825 7830 7835 7840 7845 7850 7855 7860 7865 7870 7875 7880 7885 7890 7895 7900 7905 7910 7915 7920 7925 7930 7935 7940 7945 7950 7955 7960 7965 7970 7975 7980 7985 7990 7995 8000 8005 8010 8015 8020 8025 8030 8035 8040 8045 8050 8055 8060 8065 8070 8075 8080 8085 8090 8095 8100 8105 8110 8115 8120 8125 8130 8135 8140 8145 8150 8155 8160 8165 8170 8175 8180 8185 8190 8195 8200 8205 8210 8215 8220 8225 8230 8235 8240 8245 8250 8255 8260 8265 8270 8275 8280 8285 8290 8295 8300 8305 8310 8315 8320 8325 8330 8335 8340 8345 8350 8355 8360 8365 8370 8375 8380 8385 8390 8395 8400 8405 8410 8415 8420 8425 8430 8435 8440 8445 8450 8455 8460 8465 8470 8475 8480 8485 8490 8495 8500 8505 8510 8515 8520 8525 8530 8535 8540 8545 8550 8555 8560 8565 8570 8575 8580 8585 8590 8595 8600 8605 8610 8615 8620 8625 8630 8635 8640 8645 8650 8655 8660 8665 8670 8675 8680 8685 8690 8695 8700 8705 8710 8715 8720 8725 8730 8735 8740 8745 8750 8755 8760 8765 8770 8775 8780 8785 8790 8795 8800 8805 8810 8815 8820 8825 8830 8835 8840 8845 8850 8855 8860 8865 8870 8875 8880 8885 8890 8895 8900 8905 8910 8915 8920 8925 8930 8935 8940 8945 8950 8955 8960 8965 8970 8975 8980 8985 8990 8995 9000 9005 9010 9015 9020 9025 9030 9035 9040 9045 9050 9055 9060 9065 9070 9075 9080 9085 9090 9095 9100 9105 9110 9115 9120 9125 9130 9135 9140 9145 9150 9155 9160 9165 9170 9175 9180 9185 9190 9195 9200 9205 9210 9215 9220 9225 9230 9235 9240 9245 9250 9255 9260 9265 9270 9275 9280 9285 9290 9295 9300 9305 9310 9315 9320 9325 9330 9335 9340 9345 9350 9355 9360 9365 9370 9375 9380 9385 9390 9395 9400 9405 9410 9415 9420 9425 9430 9435 9440 9445 9450 9455 9460 9465 9470 9475 9480 9485 9490 9495 9500 9505 9510 9515 9520 9525 9530 9535 9540 9545 9550 9555 9560 9565 9570 9575 9580 9585 9590 9595 9600 9605 9610 9615 9620 9625 9630 9635 9640 9645 9650 9655 9660 9665 9670 9675 9680 9685 9690 9695 9700 9705 9710 9715 9720 9725 9730 9735 9740 9745 9750 9755 9760 9765 9770 9775 9780 9785 9790 9795 9800 9805 9810 9815 9820 9825 9830 9835 9840 9845 9850 9855 9860 9865 9870 9875 9880 9885 9890 9895 9900 9905 9910 9915 9920 9925 9930 9935 9940 9945 9950 9955 9960 9965 9970 9975 9980 9985 9990 9995 10000 10005 10010 10015 10020 10025 10030 10035 10040 10045 10050 10055 10060 10065 10070 10075 10080 10085 10090 10095 10100 10105 10110 10115 10120 10125 10130 1013

un anticuerpo que no experimenta modificación postraduccional y un anticuerpo derivado de modificación postraduccional del anticuerpo.

5 En una realización, la composición farmacéutica de la presente invención comprende un anticuerpo anti-Igβ humana seleccionado del grupo que consiste en los siguientes (1) a (3) y un anticuerpo anti-Igβ humana derivado de modificación postraduccional del anticuerpo anti-Igβ humana:

10 (1) un anticuerpo anti-Igβ humana que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 119 de SEQ ID NO: 6, una región variable de cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 112 de SEQ ID NO: 8 y una región constante de cadena pesada que es una región constante de Igγ1 humana que tiene las mutaciones de aminoácidos S239D, H268D y L328W;

15 (2) un anticuerpo anti-Igβ humana que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 119 de SEQ ID NO: 2, una región variable de cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 112 de SEQ ID NO: 4 y una región constante de cadena pesada que es una región constante de Igγ1 humana que tiene las mutaciones de aminoácidos S239D, H268D y L328W; y

20 (3) un anticuerpo anti-Igβ humana que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 119 de SEQ ID NO: 10, una región variable de cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 112 de SEQ ID NO: 12 y una región constante de cadena pesada que es una región constante de Igγ1 humana que tiene las mutaciones de aminoácidos S239D, H268D y L328W.

25 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo en el que la lisina en el extremo C-terminal de la cadena pesada está delecionada, un anticuerpo que ha experimentado modificación postraduccional en el extremo N-terminal, un anticuerpo en el que la lisina en el extremo C-terminal de la cadena pesada está delecionada y que ha experimentado modificación postraduccional en el extremo N-terminal y/o un anticuerpo que tiene una lisina en el extremo C-terminal de la cadena pesada y no experimenta modificación postraduccional en el extremo N-terminal.

30 En una realización, la composición farmacéutica de la presente invención que comprende un anticuerpo anti-Igβ humana incluye una composición farmacéutica que comprende dos o más anticuerpos anti-Igβ humana seleccionados de los siguientes (1) a (4):

35 (1) un anticuerpo anti-Igβ humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 2 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4;

40 (2) un anticuerpo anti-Igβ humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, en la que el ácido glutámico de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4;

45 (3) un anticuerpo anti-Igβ humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 2, en la que el ácido glutámico de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4; y

50 (4) un anticuerpo anti-Igβ humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 2 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4.

55 En una realización, la composición farmacéutica de la presente invención que comprende un anticuerpo anti-Igβ humana incluye una composición farmacéutica que comprende dos o más anticuerpos anti-Igβ humana seleccionados de los siguientes (1) a (4):

60 (1) un anticuerpo anti-Igβ humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8;

65 (2) un anticuerpo anti-Igβ humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, en la que la glutamina de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8;

- 5 (3) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 6, en la que la glutamina de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8; y
- 10 (4) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8.
- 15 10 En una realización, la composición farmacéutica de la presente invención que comprende un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana incluye una composición farmacéutica que comprende dos o más anticuerpos anti-Ig $\beta$  humana seleccionados de los siguientes (1) a (4):
- 20 (1) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 10 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12;
- 25 (2) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10, en la que el ácido glutámico de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12;
- 30 (3) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 10, en la que el ácido glutámico de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12; y
- 35 (4) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 10 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12.
- 40 Además, en una realización, la composición farmacéutica de la presente invención es una composición farmacéutica descrita a continuación:
- 45 una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8, un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 6, en la que la glutamina de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 50 La cantidad de adición del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención en la formulación varía dependiendo del grado de los síntomas del paciente, la edad del paciente, la forma de dosificación del fármaco que va a usarse, el título de unión del anticuerpo o similares y, por ejemplo, puede usarse una cantidad de adición de aproximadamente 0,001 mg/kg a 100 mg/kg.
- 55 La composición farmacéutica de la presente invención puede usarse como agente para tratar enfermedades autoinmunitarias tales como lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, púrpura trombocitopénica idiopática, miastenia grave, enfermedad de Graves, neuromielitis óptica, anemia hemolítica autoinmunitaria, pénfigo, síndrome de anticuerpos antifosfolípídicos, vasculitis asociada a ANCA, síndrome de Sjögren, enfermedad de Hashimoto, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, síndrome de fatiga crónica o similares.
- 60 La presente invención incluye una composición farmacéutica para prevenir o tratar lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide o púrpura trombocitopénica idiopática que comprende el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención. Además, la presente invención incluye un método para prevenir o tratar lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide o púrpura trombocitopénica idiopática que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención. Además, la presente invención incluye el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención para su uso en la prevención o el tratamiento de lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide o púrpura trombocitopénica idiopática. Además, la presente invención incluye el uso del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención para la fabricación de una composición farmacéutica para prevenir o tratar lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide o púrpura trombocitopénica idiopática.
- 65 Se ha descrito la presente invención y se proporcionarán ejemplos específicos dirigidos a una mejor comprensión, pero estos son simplemente ejemplos y la presente invención no se limita a los mismos.

## Ejemplos

Con respecto a las partes que usan kits o reactivos comercialmente disponibles, las pruebas se realizan según el protocolo adjunto, a menos que se indique lo contrario.

5 (Ejemplo 1: adquisición de proteínas Igβ humana y de mono-Flag)

Se adquirieron una proteína en la que una etiqueta Flag se une a Igβ humana (proteína Igβ humana-Flag) y una proteína en la que una etiqueta Flag se une a Igβ de mono (proteína Igβ de mono-Flag). Se introdujo un gen de Igβ humana-Flag (SEQ ID NO: 13) en un vector GS pEE6.4 (Lonza Biologics, Inc.). Se introdujo un gen de Igβ de mono-Flag (SEQ ID NO: 14) en un vector GS pEE6.4 (Lonza Biologics, Inc.). Los vectores preparados respectivos se sometieron a transferencia génica a células 293 FreeStyle (Life Technologies, Inc.) usando un reactivo FreeStyle MAX (Life Technologies, Inc.). Se cultivaron las células respectivas en un sistema de cultivo libre de suero usando un medio de expresión de 293 FreeStyle (Life Technologies, Inc.) durante 1 semana y se adquirieron los sobrenadantes de cultivo, que contenían, respectivamente, proteína Igβ humana-Flag y proteína Igβ de mono-Flag. Se purificaron las proteínas usando un gel de afinidad de anticuerpo anti-Flag M2 (SIGMA-ALDRICH Corporation) a partir de los sobrenadantes de cultivo adquiridos y después se usaron para la siguiente prueba.

(Ejemplo 2: adquisición de anticuerpo anti-Igβ humana)

20 Con el fin de adquirir un anticuerpo anti-Igβ humana, se inyectaron la proteína Igβ humana-Flag y la proteína Igβ de mono-Flag adquiridas en el ejemplo 1 a un ratón C3H/HeJJmsSlc-lpr/lpr (Japan SLC, Inc.) junto con un adyuvante para provocar una reacción inmunitaria para realizar la inmunización. Al ratón se le inmunió varias veces y se realizó una inmunización final. Según el método convencional, se extrajo un bazo y un ganglio linfático del ratón inmunizado y se recogieron los linfocitos y se fusionaron con células, con células de mieloma de ratón SP2/0 (ATCC CRL-1581), preparando de ese modo un hibridoma. Se preparó una muestra de dilución limitante del hibridoma y se monoclónal el hibridoma. Se expandieron los clones respectivos y se cultivaron, se cambió el medio de cultivo a SFM para hibridomas (Life Technologies, Inc.), que es un medio de cultivo libre de suero, y después se cultivaron los clones durante de 3 a 5 días. Se purificó un anticuerpo usando un kit de purificación de anticuerpos (kit de purificación de proteína G; Proteus, Inc.) a partir del sobrenadante de cultivo obtenido.

30 Con respecto a los anticuerpos obtenidos a partir de los clones respectivos, se evaluaron la actividad de unión en las proteínas Igβ humana y de mono-Flag y la actividad de unión en células B humanas y de mono. Como resultado, se halló que un anticuerpo denominado CL6\_40 se unió a ambas de las proteínas Igβ humana y de mono-Flag y tuvo una alta actividad de unión con respecto a las células B tanto humanas como de mono. Con respecto a CL6\_40, se clonaron los genes que codifican para una cadena pesada y una cadena ligera a partir del hibridoma y se realizó la determinación de la secuencia.

(Ejemplo 3: preparación de anticuerpo humanizado)

40 Se trasplantaron las CDR de la cadena pesada y la cadena ligera de CL6\_40 a otros anticuerpos humanos y se prepararon una pluralidad de genes de cadenas pesadas y cadenas ligeras de anticuerpos humanizados. Se construyó un vector de expresión que comprendía genes tanto de una cadena pesada como de una cadena ligera de anticuerpos humanizados respectivos usando un vector GS (Lonza Biologics, Inc.). Específicamente, los genes que codifican para las secuencias señal (N. Whittle *et al.*, Protein Eng., vol. 1, págs. 499-505, 1987) y el gen de la región constante de Igγ1 humana (que consiste en la secuencia de bases de los números de base 358 a 1350 de SEQ ID NO: 1) que tiene las mutaciones de aminoácidos S239D, H268D y L328W se ligaron respectivamente al lado 5' y al lado 3' de los genes de la región variable de cadena pesada de los anticuerpos humanizados respectivos, y después se insertaron los genes de la cadena pesada en un vector GS pEE6.4. Además, los genes que codifican para las secuencias señal (N. Whittle *et al.*, mencionado anteriormente) y los genes de la región constante de una cadena κ humana (que consiste en la secuencia de bases de los números de base 337 a 657 de SEQ ID NO: 3) se ligaron respectivamente al lado 5' y al lado 3' de los genes de la región variable de cadena ligera de los anticuerpos humanizados respectivos, y después se insertaron los genes de la cadena ligera en un vector GS pEE12.4.

55 La secuencia de bases de la cadena pesada del anticuerpo humanizado preparado, CL6\_40m12\_DDW, se muestra en las SEQ ID NO: 1 y 15, la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de bases se muestra en SEQ ID NO: 2, la secuencia de bases de la cadena ligera del anticuerpo se muestra en SEQ ID NO: 3 y la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de bases se muestra en SEQ ID NO: 4. La región variable de cadena pesada mostrada en SEQ ID NO: 2 consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 119 de SEQ ID NO: 2 y la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la cadena pesada cada una consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 31 a 35, 50 a 65 y 98 a 108 de SEQ ID NO: 2. La región variable de cadena ligera mostrada en SEQ ID NO: 4 consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 112 de SEQ ID NO: 4 y la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la cadena ligera cada una consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 24 a 38, 54 a 60 y 93 a 101 de SEQ ID NO: 4.

65 La secuencia de bases de la cadena pesada del anticuerpo humanizado preparado, CL6\_40m14\_DDW, se muestra

en SEQ ID NO: 5, la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de bases se muestra en SEQ ID NO: 6, la secuencia de bases de la cadena ligera del anticuerpo se muestra en SEQ ID NO: 7 y la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de bases se muestra en SEQ ID NO: 8. La región variable de la cadena pesada mostrada en SEQ ID NO: 6 consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 119 de SEQ ID NO: 6 y la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la cadena pesada consisten respectivamente en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 31 a 35, 50 a 65 y 98 a 108 de SEQ ID NO: 6. La región variable de la cadena ligera mostrada en SEQ ID NO: 8 consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 112 de SEQ ID NO: 8 y la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la cadena ligera consisten respectivamente en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 24 a 38, 54 a 60 y 93 a 101 de SEQ ID NO: 8.

La secuencia de bases de la cadena pesada del anticuerpo humanizado preparado, CL6\_40m16\_DDW, se muestra en SEQ ID NO: 9, la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de bases se muestra en SEQ ID NO: 10, la secuencia de bases de la cadena ligera del anticuerpo se muestra en SEQ ID NO: 11 y la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de bases se muestra en SEQ ID NO: 12. La región variable de la cadena pesada mostrada en SEQ ID NO: 10 consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 119 de SEQ ID NO: 10 y la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la cadena pesada consisten respectivamente en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 31 a 35, 50 a 65 y 98 a 108 de SEQ ID NO: 10. La región variable de la cadena ligera mostrada en SEQ ID NO: 12 consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 112 de SEQ ID NO: 12 y la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la cadena ligera consisten respectivamente en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 24 a 38, 54 a 60 y 93 a 101 de SEQ ID NO: 12.

La CDR1, la CDR2 y la CDR3 de cada una de las cadenas pesadas mostradas en las SEQ ID NO: 6 y 10 son las mismas que la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la cadena pesada mostrada en SEQ ID NO: 2 y la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de cada una de las cadenas ligeras mostradas en las SEQ ID NO: 8 y 12 son las mismas que la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la cadena ligera mostrada en SEQ ID NO: 4.

Con el fin de preparar cada anticuerpo humanizado, se escindió el vector GS anteriormente descrito, en el que se insertaron respectivamente los genes de la cadena pesada y la cadena ligera de cada anticuerpo, con una enzima de restricción mediante NotI y PvuI, y se realizó la ligación usando un kit de conveniencia de ligación (NIPPONGENE Co., Ltd.), construyendo de ese modo un vector de doble gen en el que se insertaron ambos genes de la cadena pesada y la cadena ligera. A continuación, se transfeció el vector de doble gen usando ExpiFectamine 293 (Life Technologies, Inc.) y se cultivó durante 5 días con respecto a células Expi293 (Life Technologies, Inc.) cultivadas en un medio de expresión de Expi293 (Life Technologies, Inc.) a aproximadamente 3000000 células/ml. A continuación, se obtuvieron anticuerpos purificados de los anticuerpos humanizados respectivos usando proteína G (GE Healthcare Japan Corporation) a partir de los sobrenadantes de cultivo obtenidos. Con respecto a la expresión constitutiva, los anticuerpos se expresaron transfectando el vector de doble gen anteriormente descrito a células CHO-K1S (Lonza Biologics, Inc.). Despues se obtuvieron anticuerpos purificados de los anticuerpos humanizados respectivos usando MabSelect SuRe (GE Healthcare Japan Corporation) a partir de los sobrenadantes de cultivo. Como resultado de analizar la modificación de aminoácidos de los anticuerpos humanizados purificados respectivos, en la mayoría de los anticuerpos purificados, en CL6\_40m12\_DDW se produjo la delección de lisina en el extremo C-terminal de la cadena pesada, en CL6\_40m14\_DDW se produjeron la piroglutamilación en el extremo N-terminal de la cadena pesada y la delección de lisina en el extremo C-terminal de la cadena pesada y en CL6\_40m16\_DDW se produjo la delección de lisina en el extremo C-terminal de la cadena pesada.

(Ejemplo 4: ensayo ELISA con respecto a antígeno)

Con el fin de medir la actividad de unión a antígeno del anticuerpo humanizado, se usó ELISA de antígenos. Se preparó la proteína Igβ humana-Flag adquirida en el ejemplo 1 con una solución salina tamponada con Tris (TBS; Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) para tener una concentración de 5000 ng/ml, se añadió a una placa NUNC MaxiSorp blanca de 384 pocillos (placa Maxisorp 384: Nunc Corporation) en una cantidad de 15 µl por pocillo y después se solidificó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se lavó lo resultante con TBS-T (TBS que contiene Tween-20 al 0,05%: Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) dos veces, se añadieron a lo mismo 120 µl de un agente bloqueante (Blocking One: Nacalai Tesque, Inc.), se dejó lo resultante a temperatura ambiente durante 1 hora y se retiró la disolución. Se preparó una serie de diluciones (8 etapas con una concentración final de 0,46 ng/ml a 1 µg/ml) de los anticuerpos humanizados respectivos obtenidos en el ejemplo 3 usando una disolución diluida obtenida añadiendo la misma cantidad del agente bloqueante y TBS y después se añadió a lo mismo en una cantidad de 15 µl. Se dejó lo resultante a temperatura ambiente durante 1 hora, se lavó con un líquido de lavado de TBS-T tres veces y se añadieron a lo mismo 20 µl de un anticuerpo de conejo anti-Ig humana marcado con peroxidasa de rábano picante (HRP) (Dako Ltd.) que se había diluido 3000 veces con una disolución diluida. Despues de eso, se dejó lo resultante a temperatura ambiente durante 1 hora y después se lavó con un líquido de lavado de TBS-T tres veces. A continuación, se añadieron a lo mismo 30 µl de sustrato de ELISA de quimioluminiscencia BM (POD) (Roche Diagnostics Inc.), que es un reactivo de detección de quimioluminiscencia, y se midió la cantidad de quimioluminiscencia del mismo mediante un contador EnVision (PerkinElmer, Co., Ltd.). Usando el mismo método, se realizó un ensayo ELISA de antígenos usando la proteína Igβ de mono-Flag adquirida en el ejemplo 1. Cuando se calcularon las actividades de unión en las concentraciones respectivas de los anticuerpos de prueba, la cantidad de

medición de un pocillo al que no se le añadió un anticuerpo de prueba se estableció como el 0% y el valor de convergencia de la actividad máxima del anticuerpo de prueba se estableció como el 100%. Se analizaron las actividades de unión calculadas y se calcularon los valores de CE<sub>50</sub> de los anticuerpos de prueba ajustando una curva.

- 5 Como resultado, los valores de CE<sub>50</sub> con respecto a las proteínas Igβ humana y de mono-Flag de CL6\_40m12\_DDW fueron respectivamente de 128 ng/ml y 183 ng/ml. Los valores de CE<sub>50</sub> con respecto a las proteínas Igβ humana y de mono-Flag de CL6\_40m14\_DDW fueron respectivamente de 100 ng/ml y 106 ng/ml. Los valores de CE<sub>50</sub> con respecto a las proteínas Igβ humana y de mono-Flag de CL6\_40m16\_DDW fueron respectivamente de 132 ng/ml y 118 ng/ml. Se confirmó que todos los anticuerpos humanizados respectivos tenían altas actividades de unión con respecto a ambas de las proteínas Igβ humana y de mono-Flag.
- 10

(Ejemplo 5: análisis de FACS con respecto a PBMC humanas y de mono)

15 Con el fin de evaluar las actividades de unión de los anticuerpos humanizados con respecto a células humanas y de mono, se realizó un análisis de clasificación celular activada por fluorescencia (FACS) en PBMC humanas y de mono con un índice de CD20, que es un marcador de células B, usando células B contenidas en las PBMC como diana. Las PBMC de mono se prepararon diluyendo la sangre de un mono en la misma cantidad de PBS (Life Technologies, Inc.), laminando la sangre diluida en la misma cantidad de Ficoll (GE Healthcare Japan Corporation) y realizando un tratamiento centrífugo a temperatura ambiente y a 1500 rpm durante 30 minutos. A continuación, se sembraron PBMC humanas (AllCells, Inc.) o PBMC de mono en una cantidad de 200000 por pocillo en una placa de 96 pocillos (Greiner Bio-One) en un estado de estar suspendidas en 30 µl de tampón de tinción (Becton, Dickinson Company). Se preparó una serie de diluciones (4 etapas con una concentración final de 0,03 ng/ml a 30 µg/ml) de cada uno de los anticuerpos humanizados adquiridos en el ejemplo 3 usando tampón de tinción y se añadieron a lo mismo 30 µl de la serie de diluciones. Se dejó lo resultante en hielo durante 30 minutos, se lavó con tampón de tinción tres veces y se añadieron a lo mismo 40 µl de una disolución que tenía un fragmento Fcγ de cabra anti-IgG humana marcado con ficoeritrina (JACKSON, Inc.) que se diluyó 200 veces con tampón de tinción y un anticuerpo de ratón anti-CD20 marcado con aloficocianina (Becton, Dickinson Company) diluido 8 veces con tampón de tinción. Se dejó lo resultante en hielo durante 30 minutos y se lavó con tampón de tinción dos veces, se midió la intensidad de fluorescencia usando FACSArray (Becton, Dickinson Company) y después se calculó la intensidad de fluorescencia media: IFM). Se usó FlowJo (TOMY DIGITAL BIOLOGY Co., Ltd.) para el análisis.

20

25

30

Como resultado, se confirmó que todos los anticuerpos humanizados respectivos tenían altas actividades de unión con respecto a células B tanto humanas como de mono.

- 35 (Ejemplo 6: evaluación de la actividad de proliferación celular inducida por el anticuerpo anti-IgM)

40 Con el fin de evaluar el efecto inhibidor de los anticuerpos humanizados con respecto a la activación de células B humanas debido a la estimulación con BCR, se evaluó la actividad de proliferación celular inducida por el anticuerpo anti-IgM en células B humanas. El anticuerpo anti-IgM activa las células B permitiendo que se agregue el BCR. Un anticuerpo que se une tanto al BCR como a FcγRIIb moviliza el FcγRIIb con respecto al BCR y, por tanto, se puede inhibir la proliferación de células B. En este ejemplo, se usó el anticuerpo anti-CD19 S267E/L328F (documento de patente 2) como anticuerpo comparativo. Como anticuerpo de control, se usó un anticuerpo IgG1 humana (Ac anti-KLH) contra KLH (hemocianina de lapa californiana) que es un antígeno no existente en un cuerpo vivo (documento WO 2013/094723). A continuación, se sembraron células B humanas (AllCells, Inc.) en una cantidad de 30000 por pocillo en una placa de 96 pocillos (Iwaki, Co., Ltd.) usando 60 µl de medio de cultivo RPMI (SIGMA-ALDRICH Corporation). Posteriormente, se prepararon una serie de diluciones (3 etapas con una concentración final de 0,3 ng/ml a 30 µg/ml) de los anticuerpos humanos completos respectivos adquiridos en el ejemplo 3, anticuerpo anti-CD19 S267E/L328F o Ac anti-KLH y se añadieron a lo mismo en una cantidad de 20 µl usando el medio de cultivo RPMI. Se añadieron 20 µl del anticuerpo anti-IgM (JACKSON, Inc.) preparado de tal manera que la concentración final del mismo en el medio de cultivo RPMI se ajustó a 5 µg/ml y se incubó en una incubadora de CO<sub>2</sub> durante 4 días. A continuación, se realizó el análisis de proliferación celular usando CellTiter-Glo (Promega K.K.). Además, en este ejemplo, se prepararon respectivamente un grupo de anticuerpo de prueba no añadido/anticuerpo anti-IgM no añadido y un grupo de anticuerpo de prueba no añadido/anticuerpo anti-IgM añadido como control negativo y control positivo, y después se realizó una prueba. Los anticuerpos de prueba respectivos se sometieron a prueba por duplicado.

45

50

55

La figura 1 muestra los resultados de la tasa de proliferación de células B humanas. Las tasas de proliferación de un grupo de administración de anticuerpo de prueba se calcularon estableciendo un grupo de anticuerpo de prueba no añadido/anticuerpo anti-IgM no añadido como control negativo (tasa de proliferación: 0%) y un grupo de anticuerpo de prueba no añadido/anticuerpo anti-IgM añadido como control positivo (tasa de proliferación: 100%). Esto significa que la actividad inhibidora con respecto al BCR de un anticuerpo de prueba es más fuerte cuando el valor de la tasa de proliferación del mismo es más pequeño.

60

65

Tal como se muestra en la figura 1, mientras que la tasa de proliferación en 30 µg/ml de anticuerpo anti-CD19 S267E/L328F fue del 52,3%, las tasas de proliferación en 30 µg/ml de CL6\_40m12\_DDW, CL6\_40m14\_DDW y CL6\_40m16\_DDW fueron respectivamente del 2,8%, del 20,2% y del 23,2%. Por tanto, resulta evidente que todos los

anticuerpos humanos completos anteriormente descritos tienen fuertes actividades inhibidoras con respecto a la proliferación celular inducida por el anticuerpo anti-IgM en células B humanas en comparación con el anticuerpo anti-CD19 S267E/L328F.

5 (Ejemplo 7: evaluación de la eficacia farmacológica en un modelo de ratón NOG de transferencia de PBMC humanas)

Con el fin de verificar la eficacia de un anticuerpo humanizado con respecto a la producción de anticuerpos *in vivo*, se evaluó una acción de diversos anticuerpos en la administración para el tratamiento con respecto a un aumento de los títulos de anticuerpo humano inducido por la transferencia de PBMC humanas en un ratón NOG. En el presente 10 modelo, se considera que las células B humanas activadas de manera violenta por el reconocimiento de cuerpo extraño (ratón) se diferencian en células plasmáticas (blastos) en el cuerpo del ratón, y el presente modelo es apropiado para evaluar una acción farmacológica de un fármaco de prueba con respecto a la actividad de células de la serie B humanas.

15 Se suspendieron PBMC humanas (AllCells, Inc.) a 10000000 células/ml en PBS (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) y se administraron a la vena de la cola de un ratón NOG macho de 11 semanas de edad (In-vivo Science, Inc.) en una cantidad de 0,25 ml (2500000 células). El día 34 (día 34 después de la transferencia de PBMC), se midió el peso y se 20 tomaron muestras de sangre. Se midió el título de anticuerpo de IgM e IgE humanas en plasma usando ELISA (Bethyl Laboratories, Inc.). El agrupamiento se realizó basándose en la IgM humana en plasma, el título de anticuerpo de IgE y los datos de peso.

25 En este ejemplo, como anticuerpo comparativo, se usó el anticuerpo anti-CD19 S267E/L328F. Como anticuerpo de control, se usó Ac anti-KLH. Se administraron 10 mg/10 ml/kg de un anticuerpo de prueba a un ratón mediante administración subcutánea los días 35 y 42. Se realizó la toma de muestras de sangre los días 42 y 49 y se midió el título de anticuerpo de IgM e IgE humanas en plasma usando ELISA (Bethyl Laboratories, Inc.). La prueba se realizó en una unidad de un grupo de 4 ó 5 animales. Los resultados de la prueba se muestran como "valor promedio ± error 30 estándar". Se realizó una prueba de diferencias significativas de un grupo de Ac anti-KLH y diversos grupos de anticuerpo de prueba usando una prueba de la t de Student, y un caso en el que el valor de p fuese inferior a 0,05 se consideró como estadísticamente significativo. La prueba anteriormente descrita se realizó usando GraphPad Prism (versión 5.04).

35 La figura 2 muestra la acción de un anticuerpo de prueba con respecto al título de anticuerpo de IgM humana en plasma. El título de anticuerpo de IgM humana en plasma disminuyó significativamente para CL6\_40m12\_DDW y CL6\_40m14\_DDW en comparación con Ac anti-KLH. Una acción de disminución de CL6\_40m12\_DDW y CL6\_40m14\_DDW con respecto al título de anticuerpo de IgM humana en plasma se expresó de manera excesivamente temprana y se reconoció desde la primera semana después de comenzar la administración (día 42). Mientras tanto, en el anticuerpo anti-CD19 S267E/L328F, una acción de disminución con respecto al título de anticuerpo de IgM humana en plasma fue significativa sólo después de 2 semanas después de comenzar la 40 administración (día 49).

45 A continuación, la figura 3 muestra la acción de un anticuerpo de prueba con respecto al título de anticuerpo de IgE humana en plasma. En CL6\_40m12\_DDW y CL6\_40m14\_DDW, el título de anticuerpo de IgE humana en plasma disminuyó rápida y significativamente en comparación con Ac anti-KLH. Mientras tanto, en el anticuerpo anti-CD19 S267E/L328F, el título de anticuerpo de IgE humana en plasma no disminuyó.

50 (Ejemplo 8: evaluación de la eficacia farmacológica en un modelo de mono de sensibilización de antígenos con TTx)

55 Se produjo IgG específica de antígeno de TTx sensibilizando a un mono con un antígeno de toxoide tetánico (TTx) adsorbido una vez. En el presente modelo, se pueden evaluar los títulos de anticuerpo total en plasma además de IgG específica de antígeno de TTx en plasma. Por consiguiente, en el presente modelo, se puede evaluar la seguridad además de la eficacia del mismo cuando se tratan enfermedades autoinmunitarias.

60 Usando un macaco cangrejero macho (área de producción: China, 3 años de edad o mayor), se mezclaron de 2 mg/kg a 5 mg/kg (0,05 ml/kg: USP Corporation) de clorhidrato de zolazepam y de 2,5 mg/kg a 5 mg/kg de clorhidrato de tiletamina bajo anestesia y se sensibilizó con TTx (el día de la sensibilización se estableció como el día 0). La sensibilización con TTx se realizó inyectando 0,6 ml de toxoide tetánico/mono (TTx, 10 Lf/ml, Denka Seika Co., Ltd.) en el músculo del muslo y 0,6 ml/mono (respectivamente, 50 µl a 12 sitios) en la parte posterior intradérmica. Como grupos tratados, se usaron un grupo de vehículo (disolvente (20 mM de tampón citrato de sodio/120 mM, NaCl (pH: 6,0); KOHJIN BIO Co., Ltd.) 1 ml/kg, n = 3) y un grupo de administración de anticuerpo (10 mg/l ml/kg, anticuerpo humanizado CL6\_40m14\_DDW (diluido con disolvente), n = 3). El momento de la administración se estableció en el 65 día 14 después de la sensibilización con TTx y la administración en la vena se realizó con una dosificación de 1 ml/kg al despertar.

Después de administrar CL6\_40m14\_DDW al macaco cangrejero anteriormente descrito, se tomaron muestras de sangre con el tiempo, por ejemplo, después de 4 horas, 72 horas, 168 horas y 336 horas, y se sometieron a un tratamiento centrífugo, y después se recuperó el plasma. La concentración de fármacos en el plasma se midió usando la estación de trabajo Gyrolab™ xP (Gyros AB). Como el método y el disco, se usaron 200-3W-001-A y discos compactos Bioaffy 200 (Gyros AB). Además, como antígeno solidificado y anticuerpo de detección, se usaron CD79B humana recombinante marcada con biotina (Novoprotein, Inc.) y anticuerpo de cabra anti-IgG humana marcado con ALEXA (Southern Biotechnology Associates, Inc.). Tal como se enumera en la tabla 1, la concentración de fármacos en plasma de CL6\_40m14\_DDW se mantuvo durante el periodo de evaluación del modelo.

Tabla 1: Transición de la concentración de fármacos en plasma con respecto al anticuerpo anti-Igβ humanizado en mono

[Tabla 1]

	Concentración de fármacos en plasma del sujeto 1 (μg/ml)	Concentración de fármacos en plasma del sujeto 2 (μg/ml)	Concentración de fármacos en plasma del sujeto 3 (μg/ml)
Después de 4 horas	252,111	263,242	258,271
Después de 72 horas	143,586	144,095	114,605
Después de 168 horas	120,070	112,865	95,848
Después de 336 horas	76,854	62,281	53,305

Se tomaron muestras de sangre a partir del macaco cangrejero anteriormente descrito con el tiempo en el día 13 (13 días después de inmunizar al macaco cangrejero mediante toxoide tetánico adsorbido), el día 14, el día 17, el día 21 y el día 28, se llevó a cabo un tratamiento centrífugo y se recuperó el plasma. Con el fin de medir el anticuerpo anti-toxoide tetánico adsorbido (anti-IgG de TTx) en el plasma recuperado, se usó ELISA de antígenos. Se diluyó el toxoide tetánico adsorbido (Denka Seika Co., Ltd.) 20 veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS; Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), se añadió a una placa NUNC MaxiSorp de 96 pocillos (placa Maxisorp 96: Nunc Corporation) en una cantidad de 100 μl por pocillo y después se solidificó a 4°C durante una noche. Se lavó lo resultante con PBS-T (PBS que contiene Tween-20 al 0,05%: Thermo Scientific, Inc.) cuatro veces, se añadieron a lo mismo 200 μl de un agente bloqueante (Blocker Casein en PBS; Life Technologies, Inc.), se dejó lo resultante a temperatura ambiente durante 2 horas y se retiró la disolución. A continuación, se añadieron respectivamente a lo mismo 100 μl del plasma recuperado y 100 μl de una muestra para una curva de calibración. Como muestra para una curva de calibración, se usó una muestra mezclada con plasma recogido el día 21 y el día 23 después de la inmunización del macaco cangrejero mediante toxoide tetánico adsorbido, se ajustó la cantidad de la misma a 100 U/ml y se usó una serie de diluciones (de 0,488 mU/ml a 500 mU/ml) preparada usando un agente bloqueante como disolución diluida. Se dejó lo resultante a temperatura ambiente durante 2 horas, se lavó con un líquido de lavado de PBS-T cuatro veces y se añadió a lo mismo 100 μl de un anticuerpo de cabra anti-IgG de mono marcado con peroxidasa de rábano picante (HRP) (Nordic, Inc.) que se había diluido 3000 veces con un agente bloqueante. Despues de eso, se dejó lo resultante a temperatura ambiente durante 1 hora y después se lavó con el líquido de lavado de PBS-T cuatro veces. A continuación, se realizó la medición usando el sistema de sustrato de peroxidasa de micropocillos TMB (KPL, Inc.). Se midió la absorbancia del mismo mediante SpectraMax (Molecular Devices, Inc.).

La figura 4 muestra la acción del anticuerpo de prueba con respecto al título de anticuerpo de toxoide tetánico adsorbido en plasma. El título de anticuerpo de toxoide tetánico adsorbido en plasma (anti-IgG de TTx) disminuyó en CL6\_40m14\_DDW en comparación con el grupo de vehículo.

Se midieron los títulos de anticuerpo total (IgM, IgA e IgG) en plasma recuperado a partir del macaco cangrejero en el día 14, el día 17, el día 21 y el día 28 usando el siguiente método. Se diluyeron un anticuerpo políclonal de conejo anti-IgM de mono (COVANCE, Inc.) y un anticuerpo políclonal de conejo anti-IgA humana (Bethyl Laboratories, Inc.) 100 veces, 500 veces y 1000 veces con una solución salina tamponada con fosfato (PBS: Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), se añadieron a una placa NUNC MaxiSorp de 96 pocillos (placa Maxisorp 96: Nunc Corporation) en una cantidad de 100 μl y después se solidificó a 4°C durante una noche. Se lavó lo resultante con PBS-T (PBS que contiene Tween-20 al 0,05%: Thermo Scientific, Inc.) cuatro veces, se añadió a lo mismo 200 μl de un agente bloqueante (Blocker Casein en PBS; Life Technologies, Inc.) y se dejó lo resultante a temperatura ambiente durante 1 hora y se lavó con el líquido de lavado de PBS-T cuatro veces. Se preparó una serie de diluciones de una muestra para una curva de calibración y se recogió plasma de un mono usando un agente bloqueante como disolución diluida y se añadió a lo mismo 100 μl de la serie de diluciones. Como muestra para una curva de calibración, se diluyó plasma preparado a

partir de un macaco cangrejero normal y después se usó. Se dejó lo resultante a temperatura ambiente durante 2 horas, se lavó con un líquido de lavado de PBS-T cuatro veces y se diluyeron respectivamente un anticuerpo anti-IgM de mono marcado con peroxidasa de rábano picante (HRP) (KPL, Inc.), un anticuerpo anti-IgA humana marcado con peroxidasa de rábano picante (HRP) (Bethyl Laboratories, Inc.) y un anticuerpo anti-IgG de mono marcado con peroxidasa de rábano picante (HRP) (KPL, Inc.) 1000 veces, 5000 veces y 3000 veces con un agente bloqueante y se añadieron a lo mismo en una cantidad de 100  $\mu$ l, respectivamente. Después de eso, se dejó lo resultante a temperatura ambiente durante 2 horas y después se lavó con un líquido de lavado de PBS-T cuatro veces. A continuación, se realizó la medición usando el sistema de sustrato de peroxidasa de micropocillos TMB (KPL, Inc.). Se midió la absorbancia del mismo mediante SpectraMax (Molecular Devices, Inc.).

Las figuras 5, 6 y 7 muestran las acciones de los anticuerpos de prueba con respecto a los títulos de anticuerpo total (IgM, IgA e IgG) en plasma. CL6\_40m14\_DDW no afectó a los títulos de anticuerpo total (IgM, IgA e IgG) en plasma en comparación con el grupo de vehículo.

A partir de los resultados descritos anteriormente, resulta evidente que CL6\_40m14\_DDW suprime un anticuerpo específico de antígeno sin afectar a los títulos de anticuerpo total en plasma. Además, también resulta evidente que CL6\_40m14\_DDW tiene un perfil excelente en cuanto a seguridad además de eficacia en el momento del tratamiento de enfermedades autoinmunitarias.

## Aplicabilidad industrial

El anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención es útil para prevenir y tratar enfermedades autoinmunitarias. Además, el polinucleótido, los vectores de expresión, la célula huésped transformada y los métodos para producir el anticuerpo de la presente invención son útiles para producir el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana.

## Texto libre de la lista de secuencias

En el encabezado numérico <223> de la lista de secuencias, se realiza la descripción de "Secuencia artificial". Específicamente, las secuencias de bases mostradas en las SEQ ID NO: 1 y 3 de la lista de secuencias son las secuencias de bases de la cadena pesada y la cadena ligera de CL6\_40m12\_DDW, respectivamente, y las secuencias de aminoácidos mostradas en las SEQ ID NO: 2 y 4 son las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y la cadena ligera codificadas por las SEQ ID NO: 1 y 3, respectivamente. Las secuencias de bases mostradas en las SEQ ID NO: 5 y 7 de la lista de secuencias son las secuencias de bases de la cadena pesada y la cadena ligera de CL6\_40m14\_DDW, respectivamente, y las secuencias de aminoácidos mostradas en las SEQ ID NO: 6 y 8 son las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y la cadena ligera codificadas por las SEQ ID NO: 5 y 7, respectivamente. Las secuencias de bases mostradas en las SEQ ID NO: 9 y 11 de la lista de secuencias son las secuencias de bases de la cadena pesada y la cadena ligera de CL6\_40m16\_DDW, respectivamente, y las secuencias de aminoácidos mostradas en las SEQ ID NO: 10 y 12 de la lista de secuencias son las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y la cadena ligera codificadas por las SEQ ID NO: 9 y 11, respectivamente. La secuencia de bases mostrada en SEQ ID NO: 13 de la lista de secuencias es la secuencia de bases del gen Ig $\beta$  humana-Flag y la secuencia de bases mostrada en SEQ ID NO: 14 de la lista de secuencias es la secuencia de bases del gen Ig $\beta$  de mono-Flag. La secuencia de bases mostrada en SEQ ID NO: 15 de la lista de secuencias es la secuencia de bases de la cadena pesada de CL6\_40m12\_DDW.

## Lista de secuencias

<110> Astellas Pharma Inc.

<120> Nuevo anticuerpo anti-Ig-beta humana

<130> A15019A00

<150> Documento JP2014-160141

<151> 06-08-2014

<160> 15

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 1350

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

# ES 2 886 443 T3

<223> Cadena H del anticuerpo anti-Ig-beta humana

<220>

<221> CDS

5 <222> (1)..(1350)

<400> 1

gag gtg cag atg gtc gag agc ggg ggg ggc ctg gtg cag cct ggg ggt Glu Val Gln Met Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	48
1 5 10 15	

tcc ctg aga ctg tct tgt gcc gtg tcc ggg ttt tca ctg tcc agc tat Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr	96
20 25 30	

agt gtg cac tgg gtc cga cag gca cca ggg aag ggt ctg gag tgg gtg Ser Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	144
35 40 45	

gca gga atc tgg tca gga gga tcc att cat tat acc cct gcc ctg tct Ala Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Tyr Thr Pro Ala Leu Ser	192
50 55 60	

agt aga ttc aca gtg agc cgc gac gat tct aaa aac aca gtc tac ctg Ser Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu	240
65 70 75 80	

cag atg aat agc ctg agg gcc gag acc gct gtc tac tat tgc gct Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala	288
85 90 95	

aga tac gac cgg tat gaa act tac gca atg gat tac tgg ggc cag gga Arg Tyr Asp Arg Tyr Glu Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly	336
100 105 110	

acc ctg gtc acc gtc tcc tca gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe	384
115 120 125	

ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu	432

# ES 2 886 443 T3

130	135	140	
ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp	145	150	480
155		155	160
aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu	165	170	528
175			
cag tcc tca gga ctc tac tcc ctt agt agc gtg gtg acc gtg ccc tcc Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Val Val Thr Val Pro Ser	180	185	576
190			
agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro	195	200	624
205			
agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys	210	215	672
220			
act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro	225	230	720
240			
gac gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc Asp Val Phe Leu Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser	245	250	768
255			
cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gac gtg agc gac gaa gac Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser Asp Glu Asp	260	265	816
270			
cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn	275	280	864
285			
gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val	290	295	912
300			
gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu	305	310	960
320			
tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc tgg cca gcc ccc atc gag aaa Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Iys Ala Trp Pro Ala Pro Ile Glu Lys	325	330	1008
335			
acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr	340	345	1056
350			
ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr	355	360	1104
365			
tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu	370	375	1152
380			
agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg			1200

# ES 2 886 443 T3

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
385	390	395	400
gac tcc gac ggc tcc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag			1248
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys			
405	410	415	
agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag			1296
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
420	425	430	
gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt			1344
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
435	440	445	
aaa tga			1350
Lys			
<210> 2			
<211> 449			
5	<212> PRT		
<213> Secuencia artificial			
<220>			
<223> Constructo sintético			
10	<400> 2		
Glu Val Gln Met Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr			
20			25
30			
Ser Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35			40
45			
Ala Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Tyr Thr Pro Ala Leu Ser			
50			55
60			
Ser Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu			
65			70
75			80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala			
85			90
95			
Arg Tyr Asp Arg Tyr Glu Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
100			105
110			
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe			
115			120
125			
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu			

ES 2 886 443 T3

130

135

140

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Trp Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
325 330 335

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

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

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

# ES 2 886 443 T3

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

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

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

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

## Lys

<210> 3

<211> 657

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena L del anticuerpo anti-Ig-beta humana

10

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(657)

15 <400> 3

gac atc cag ctg acc cag tcc ccc tcc agc ctg tcc gcc tct gtg ggc  
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

48

gac aga gtg acc atc aca tgc aag gcc tcc cag tcc gtg gac tac gac  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp  
 20 25 30

96

ggc gac tcc tac atg aac tgg tat cag cag aag ccc ggc aag gcc ccc  
 Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
 35 40 45

144

aag ctg ctg atc tac gcc gcc tcc aac ctg gaa tcc ggc gtg ccc tcc  
 Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser  
 50 55 60

192

aga ttc tcc ggc tcc ggc tct ggc acc gac ttc acc ctg acc atc tcc  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 65 70 75 80

240

agc ctg cag ccc gag gac ttc gcc acc tac tac tgc cag cag tcc aac  
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn  
 85 90 95

288

gag gac ccc ctg acc ttc ggc cag ggc acc aag gtg gaa atc aag cgt  
 Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 100 105 110

336

acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag

384

# ES 2 886 443 T3

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln			
115	120	125	
ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat			432
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr			
130	135	140	
ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg			480
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser			
145	150	155	160
ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc			528
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr			
165	170	175	
tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa			576
Tyr Ser Leu Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys			
180	185	190	
cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg ccc			624
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro			
195	200	205	
gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag			657
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
210	215		
<210> 4			
<211> 218			
5 <212> PRT			
<213> Secuencia artificial			
<220>			
<223> Constructo sintético			
10 <400> 4			
Asp Ile Gln Leu 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 Ser Val Asp Tyr Asp			
20 25 30			
Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro			
35 40 45			
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser			
50 55 60			
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser			
65 70 75 80			
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn			
85 90 95			
Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg			

# ES 2 886 443 T3

100

105

110

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

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 130 135 140

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

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

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 5

<211> 1350

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena H del anticuerpo anti-Ig-beta humana

10

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1350)

15 <400> 5

cag gtg cag atg cag gaa tcc ggt ccc ggg ctg gtc cgt cct agc cag  
 Gln Val Gln Met Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln  
 1 5 10 15

48

act ctg tca ctg act tgt act gtc tca ggg ttc tca ctg tcc agc tat  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr  
 20 25 30

96

tcc gtg cac tgg gtc aga cag cca cct gga cga gga ctg gag tgg atc  
 Ser Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

144

ggc gga att tgg agc ggg ggt tct atc cat tac aca cca gct ctg tct  
 Gly Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Tyr Thr Pro Ala Leu Ser  
 50 55 60

192

agt cga gtg act gtc ctg agg gac acc agt aag aac cag gtg agc ctg  
 Ser Arg Val Thr Val Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu

240

# ES 2 886 443 T3

65	70	75	80	
aga ctg tca tcc gtc acc gcc gct gat aca gca gtg tac tat tgc gcc				288
Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala				
85	90	95		
aga tac gac cgg tat gaa acc tac gca atg gat tat tgg ggc cag ggc				336
Arg Tyr Asp Arg Tyr Glu Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly				
100	105	110		
tct ctg gtc acc gtc tcc tca gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc				384
Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe				
115	120	125		
ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg				432
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu				
130	135	140		
ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg				480
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp				
145	150	155	160	
aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta				528
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu				
165	170	175		
cag tcc tca gga ctc tac tcc ctt agt agc gtg gtg acc gtg ccc tcc				576
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser				
180	185	190		
agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc				624
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro				
195	200	205		
agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa				672
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys				
210	215	220		
act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg				720
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro				
225	230	235	240	
gac gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc				768
Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser				
245	250	255		
cg <sup>g</sup> acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gac gtg agc gac gaa gac				816
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Asp				
260	265	270		
cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat				864
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn				
275	280	285		
gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg				912
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val				
290	295	300		
gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag				960
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu				
305	310	315	320	
tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc tgg cca gcc ccc atc gag aaa				1008

# ES 2 886 443 T3

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Trp Pro Ala Pro Ile Glu Lys			
325	330	335	
acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc		1056	
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
340	345	350	
ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc		1104	
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
355	360	365	
tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag		1152	
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
370	375	380	
agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg		1200	
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
385	390	395	400
gac tcc gac ggc tcc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag		1248	
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys			
405	410	415	
agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag		1296	
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
420	425	430	
gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt		1344	
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
435	440	445	
aaa tga		1350	
Lys			
<210> 6			
<211> 449			
5 <212> PRT			
<213> Secuencia artificial			
<220>			
<223> Constructo sintético			
10 <400> 6			
Gln Val Gln Met Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln			
1 5 10 15			
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr			
20 25 30			
Ser Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile			
35 40 45			
Gly Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Tyr Thr Pro Ala Leu Ser			
50 55 60			
Ser Arg Val Thr Val Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu			

# ES 2 886 443 T3

65

70

75

80

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

# ES 2 886 443 T3

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Trp Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 7

<211> 657

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena L del anticuerpo anti-Ig-beta humana

10

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(657)

15 <400> 7

gac atc cag ctg acc cag tcc ccc tcc agc ctg tcc gcc tct gtg ggc  
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

48

gac aga gtg acc atc aca tgc aag gcc tcc cag tcc gtg gac tac gac  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp  
 20 25 30

96

ggc gac tcc tac atg aac tgg tat cag cag aag ccc ggc aag gcc ccc  
 Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
 35 40 45

144

aag ctg ctg atc tac gcc gcc tcc aac ctg gaa tcc ggc gtg ccc tcc

192

# ES 2 886 443 T3

Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ala	Ala	Ser	Asn	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Ser		
50																	
																55	
																60	
aga	tcc	tcc	ggc	tcc	ggc	tct	ggc	acc	gac	tcc	acc	tcc	acc	atc	tcc		
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser		
65																70	
																75	
																80	
agc	ctg	cag	ccc	gag	gat	atc	gcc	acc	tac	tac	tgc	cag	cag	tcc	aac		
Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Asn		
																85	
																90	
																95	
gag	gac	ccc	ctg	acc	tcc	ggc	cag	ggc	acc	aag	gtg	gaa	atc	aag	cgt		
Glu	Asp	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg		
																100	
																105	
																110	
acg	gtg	gct	gca	cca	tct	gtc	ttc	atc	ttc	ccg	cca	tct	gat	gag	cag		
Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln		
																115	
																120	
																125	
ttg	aaa	tct	gga	act	gcc	tct	gtt	gtg	tgc	ctg	ctg	aat	aac	tcc	tat		
Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr		
																130	
																135	
																140	
ccc	aga	gag	gcc	aaa	gta	cag	tgg	aag	gtg	gat	aac	gcc	ctc	caa	tcg		
Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser		
																145	
																150	
																155	
																160	
ggt	aac	tcc	cag	gag	agt	gtc	aca	gag	cag	gac	agc	aag	gac	agc	acc		
Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr		
																165	
																170	
																175	
tac	agc	ctc	agc	acc	ctg	acg	ctg	agc	aaa	gca	gac	tac	gag	aaa			
Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys		
																180	
																185	
																190	
cac	aaa	gtc	tac	gcc	tgc	gaa	gtc	acc	cat	cag	ggc	ctg	agc	tcg	ccc		
His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro		
																195	
																200	
																205	
gtc	aca	aag	agc	tcc	aac	agg	gga	gag	tgt	tag							
Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys								
																210	
																215	
<210> 8																	
<211> 218																	
5 <212> PRT																	
<213> Secuencia artificial																	
<220>																	
<223> Constructo sintético																	
10 <400> 8																	
Asp	Ile	Gln	Leu	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	Ser	Val	Asp	Tyr	Asp		
																20	
																25	
																30	
Gly	Asp	Ser	Tyr	Met	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro		

# ES 2 886 443 T3

	35	40	45	
	Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser			
	50	55	60	
	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser			
	65	70	75	80
	Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn			
	85	90	95	
	Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg			
	100	105		110
	Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln			
	115	120		125
	Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr			
	130	135		140
	Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser			
	145	150	155	160
	Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr			
	165	170		175
	Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys			
	180	185		190
	His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro			
	195	200		205
	Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
	210	215		
	<210> 9			
	<211> 1350			
5	<212> ADN			
	<213> Secuencia artificial			
	<220>			
	<223> Cadena H del anticuerpo anti-Ig-beta humana			
10	<220>			
	<221> CDS			
	<222> (1)..(1350)			
15	<400> 9			
	gaa gtg cag ctg gtg gag tcc ggg gga ggt ctg gtg cag ccc ggg ggt			
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			48

ES 2 886 443 T3

1	5	10	15	96
tct ctg cgt ctg tct tgt gcc gtg tct ggg ttt agt ctg tcc agc tat				
Ser Ile Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Ile Ser Ser Tyr				
20	25		30	
agt gtg cac tgg ttc cga aag gct ccc ggc aaa gga ctg gag tgg ctg				144
Ser Val His Trp Phe Arg Lys Ala Pro Gly Lys Gly Ile Glu Trp Ile				
35	40		45	
ggc gga atc tgg tca ggg ggt tcc att cat tat acc cct gca ctg tct				192
Gly Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Thr Pro Ala Leu Ser				
50	55		60	
agt aga ctg aca gtg agc cgc gac atc tct aag aac aca gtc tac ctg				240
Ser Arg Leu Thr Val Ser Arg Asp Ile Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu				
65	70		75	80
cag atg aat agc ctg agg gcc gag gat acc gct gtc tac tat tgc gca				288
Gln Met Asn Ser Ile Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala				
85	90		95	
aga tac gac cgg tat gaa act tac gcc atg gat tac tgg ggc cag ggc				336
Arg Tyr Asp Arg Tyr Glu Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly				
100	105		110	
acc ctg gtc acc gtc tcc tca gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc				384
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe				
115	120		125	
ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg				432
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu				
130	135		140	
ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg				480
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp				
145	150		155	160
aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta				528
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu				
165	170		175	
cag tcc tca gga ctc tac tcc ctt agt agc gtg gtg acc gtg ccc tcc				576
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser				
180	185		190	
agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc				624
Ser Ser Ile Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro				
195	200		205	
agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa				672
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys				
210	215		220	
act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg				720
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro				
225	230		235	240
gac gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc				768
Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser				
245	250		255	
cg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gac gtg agc gac gaa gac				

# ES 2 886 443 T3

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Asp			
260	265	270	
cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat			864
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn			
275	280	285	
gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg			912
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val			
290	295	300	
gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag			960
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu			
305	310	315	320
tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc tgg cca gcc ccc atc gag aaa			1008
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Trp Pro Ala Pro Ile Glu Lys			
325	330	335	
acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc			1056
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
340	345	350	
ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc			1104
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
355	360	365	
tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag			1152
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
370	375	380	
agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg			1200
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
385	390	395	400
gac tcc gac ggc tcc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag			1248
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys			
405	410	415	
agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag			1296
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
420	425	430	
gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt			1344
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
435	440	445	
aaa tga			1350
Lys			
5 <210> 10			
<211> 449			
<212> PRT			
<213> Secuencia artificial			
10 <220>			
<223> Constructo sintético			
<400> 10			
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			

ES 2 886 443 T3

1

5

10

15

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

Ser Val His Trp Phe Arg Lys Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
35 40 45

Gly Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Tyr Thr Pro Ala Leu Ser  
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ES 2 886 443 T3

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

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

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Trp Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 11

<211> 657

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena L del anticuerpo anti-Ig-beta humana

10

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(657)

15 <400> 11

# ES 2 886 443 T3

gac atc gtg ctg acc cag tcc ccc tcc agc ctg tcc gcc tct gtg ggc Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly 1 5 10 15	48
gac aga gtg acc atc aca tgc aag gcc tcc cag tcc gtg gac tac gac Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp 20 25 30	96
ggc gac tcc tac atg aac tgg tat cag cag aag ccc ggc aag gcc ccc Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro 35 40 45	144
aag ctg ctg atc tac gcc gcc tcc aac ctg gaa tcc ggc gtg ccc tcc Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser 50 55 60	192
aga ttc tcc ggc tcc ggc tct ggc acc gac ttc acc ctg acc atc tcc Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser 65 70 75 80	240
agc ctg cag ccc gag gac ttc gcc acc tac tac tgc cag cag tcc aac Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn 85 90 95	288
gag gac ccc ctg acc ttc ggc cag ggc acc aag gtg gaa atc aag cgt Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg 100 105 110	336
acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln 115 120 125	384
ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr 130 135 140	432
ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser 145 150 155 160	480
ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr 165 170 175	528
tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa Tyr Ser Leu Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys 180 185 190	576
cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg ccc His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro 195 200 205	624
gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgc tag Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys 210 215	657
<210> 12	
<211> 218	
5 <212> PRT	
<213> Secuencia artificial	
<220>	
<223> Constructo sintético	
10 <400> 12	

ES 2 886 443 T3

Asp Ile Val Leu 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 Ser Val Asp Tyr Asp  
20 25 30

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

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser  
50 55 60

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

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

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

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

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
130 135 140

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

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

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 13

<211> 450

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Gen de fusión Ig-beta humana-Flag

10 <220>

<221> CDS

<222> (1)..(447)

15 <400> 13

# ES 2 886 443 T3

1	gcc aga tcg gag gac cg	g a t c g a a t c c c a a a g g t a g t g c t g t c g	48
	Ala Arg Ser Glu Asp Arg	Tyr Arg Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys Ser	
	5	10	15
20	cgg atc tgg cag agc cca cgt ttc ata gcc agg aaa cgg ggc ttc acg	96	
	Arg Ile Trp Gln Ser Pro Arg Phe	Ile Ala Arg Lys Arg Gly Phe Thr	
	25	30	
35	gtg aaa atg cac tgc tac atg aac agc gcc tcc ggc aat gtg agc tgg	144	
	Val Lys Met His Cys Tyr Met Asn Ser Ala Ser Gly Asn Val Ser Trp		
	40	45	
50	ctc tgg aag cag gag atg gac gag aat ccc cag cag ctg aag ctg gaa	192	
	Leu Trp Lys Gln Glu Met Asp Glu Asn Pro Gln Gln Leu Lys Leu Glu		
	55	60	
65	aag ggc cgc atg gaa gag tcc cag aac gaa tct ctc gcc acc ctc acc	240	
	Lys Gly Arg Met Glu Glu Ser Gln Asn Glu Ser Leu Ala Thr Leu Thr		
	70	75	80
85	atc caa ggc atc cgg ttt gag gac aat ggc atc tac ttc tgt cag cag	288	
	Ile Gln Gly Ile Arg Phe Glu Asp Asn Gly Ile Tyr Phe Cys Gln Gln		
	90	95	
100	aag tgc aac aac acc tcg gag gtc tac cag ggc tgc ggc aca gag ctg	336	
	Lys Cys Asn Asn Thr Ser Glu Val Tyr Gln Gly Cys Gly Thr Glu Leu		
	105	110	
115	cga gtc atg gga ttc agc acc ttg gca cag ctg aag cag agg aac acg	384	
	Arg Val Met Gly Phe Ser Thr Leu Ala Gln Leu Lys Gln Arg Asn Thr		
	120	125	
130	ctg aag gat tcg tca gca gac ctg gtt ccg cgc gga tcc gac tac aag	432	
	Leu Lys Asp Ser Ser Ala Asp Leu Val Pro Arg Gly Ser Asp Tyr Lys		
	135	140	
145	gac gat gac gat aaa tga	450	
	Asp Asp Asp Asp Lys		
5	<210> 14		
	<211> 453		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
10	<220>		
	<223> Gen de fusión Ig-beta de mono-Flag		
	<220>		
	<221> CDS		
	<222> (1)..(450)		
15	<400> 14		

# ES 2 886 443 T3

1	gcc aaa tca gag gac ctg tac ccg aat ccc aaa ggt agt gct tgt tct Ala Lys Ser Glu Asp Leu Tyr Pro Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys Ser 5 10 15	48
	cgg atc tgg cag agc cca cgt ttc ata gcc agg aaa cgg ggc ttc acg Arg Ile Trp Gln Ser Pro Arg Phe Ile Ala Arg Lys Arg Gly Phe Thr 20 25 30	96
	gtg aaa atg cac tgc tac gtg acc aac agc acc ttc agc atc gtg agc Val Lys Met His Cys Tyr Val Thr Asn Ser Thr Phe Ser Ile Val Ser 35 40 45	144
	tgg ctc cgg aag cgg gag acg gac aag gag ccc caa cag gtg aac ctg Trp Leu Arg Lys Arg Glu Thr Asp Lys Glu Pro Gln Gln Val Asn Leu 50 55 60	192
	gag cag ggc cac atg cat cag acc caa aac agc tct gtc acc acc ctc Glu Gln Gly His Met His Gln Thr Gln Asn Ser Ser Val Thr Thr Leu 65 70 75 80	240
	atc atc caa gac atc cgg ttt gag gac aac ggc atc tac ttc tgt cag Ile Ile Gln Asp Ile Arg Phe Glu Asp Asn Gly Ile Tyr Phe Cys Gln 85 90 95	288
	cag gag tgc agc aag acc tcg gag gtc tac cgg ggc tgc ggc acg gag Gln Glu Cys Ser Lys Thr Ser Glu Val Tyr Arg Gly Cys Gly Thr Glu 100 105 110	336
	ctg cga gtc atg ggg ttc agc acc ttg gca cag ctg aag cag agg aac Leu Arg Val Met Gly Phe Ser Thr Leu Ala Gln Leu Lys Gln Arg Asn 115 120 125	384
	acg ctg aag gat tcg tca gca gac ctg gtt ccg cgc gga tcc gac tac Thr Leu Lys Asp Ser Ser Ala Asp Leu Val Pro Arg Gly Ser Asp Tyr 130 135 140	432
	aag gac gat gac gat aaa tga Lys Asp Asp Asp Asp Lys 145 150	453
5	<210> 15 <211> 1350 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Cadena H del anticuerpo anti-Ig-beta humana	
10	<220> <221> CDS <222> (1)..(1350)	
15	<400> 15 gag gtg cag atg gtg gaa tcc ggc gga ggc ctg gtg cag cct ggc ggc Glu Val Gln Met Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	48

# ES 2 886 443 T3

1	5	10	15	
tct	ctg	aga	ctg	96
tcc	tcc	tcc	gtc	
20	25	30		
Ser	Leu	Arg	Ile	
Ser	Cys	Ala	Val	
Ser	Gly	Phe	Ser	
Ser	Leu	Ser	Ser	
Tyr				
tcc	gtg	cac	tgg	144
tcc	gtc	cga	cag	
25	30	35	40	
Ser	Val	His	Trp	
Val	Arg	Gln	Ala	
Arg	Gly	Pro	Gly	
Gly	Ile	Lys	Gly	
Ile	His	Tyr	Ile	
His	Tyr	Thr	His	
Tyr	Pro	Ala	Leu	
Leu	Ser			
gcc	gcc	att	tgg	192
gcc	ggc	ggc	tcc	
50	55	60		
Ala	Gly	Ile	Trp	
Trp	Ser	Gly	Gly	
Ser	Ile	His	Tyr	
Ile	His	Tyr	Thr	
His	Tyr	Pro	Ala	
Tyr	Pro	Leu	Ser	
tcc	cgg	ttc	acc	240
tcc	cgg	gac	gac	
65	70	75	80	
Ser	Arg	Phe	Thr	
Arg	Thr	Val	Ser	
Phe	Ser	Arg	Asp	
Thr	Asp	Asp	Ser	
Val	Lys	Asn	Thr	
Ser	Asn	Asn	Val	
Asn	Ser	Ile	Tyr	
Ser	Leu	Arg	Gly	
Ile	Arg	Ala	Asp	
Arg	Gly	Asp	Thr	
Gly	Ile	Ala	Val	
Ile	Val	Tyr	Tyr	
Val	Tyr	Cys	Ala	
cag	atg	aac	tcc	288
ctg	cgg	ggc	gag	
85	90	95		
Gln	Met	Asn	Ser	
Met	Asn	Ser	Leu	
Asn	Ser	Leu	Arg	
Ser	Leu	Arg	Ala	
Leu	Arg	Ala	Glu	
Arg	Gly	Gly	Asp	
Gly	Ile	Asp	Thr	
Ile	Asp	Thr	Ala	
Asp	Thr	Ala	Val	
Thr	Tyr	Tyr	Tyr	
Tyr	Cys	Ala	Tyr	
cgc	tac	gac	aga	336
gac	aca	tac	gac	
100	105	110		
Arg	Tyr	Asp	Arg	
Tyr	Asp	Arg	Tyr	
Asp	Arg	Tyr	Glu	
Arg	Tyr	Glu	Thr	
Tyr	Ala	Met	Asp	
Ala	Met	Asp	Tyr	
Met	Asp	Tyr	Trp	
Asp	Tyr	Trp	Gly	
Tyr	Gly	Gly	Gln	
Gly	Gly	Gly	Gly	
acc	ctg	gtg	aca	384
tcc	gcc	tcc	gtg	
115	120	125		
Thr	Leu	Val	Thr	
Leu	Val	Val	Ser	
Val	Ser	Ser	Ala	
Ser	Ala	Ser	Ser	
Ala	Ser	Thr	Thr	
Ser	Thr	Lys	Gly	
Thr	Lys	Pro	Pro	
Lys	Pro	Ser	Val	
Pro	Ser	Val	Phe	
Ser	Val	Phe	Thr	
Val	Phe	Thr	Leu	
Pro	Thr	Leu	Ile	
Ser	Leu	Ile	Asn	
Leu	Ile	Asn	Ser	
Ile	Asn	Ser	Gly	
Asn	Ser	Gly	Ile	
Ser	Gly	Ile	Leu	
Gly	Ile	Leu	Thr	
Ile	Leu	Thr	Ser	
Leu	Thr	Ser	Ile	
Thr	Ser	Ile	Ser	
Ser	Ile	Ser	Val	
Ile	Ser	Val	Val	
Ser	Val	Val	Thr	
Val	Val	Thr	Val	
Val	Thr	Val	Pro	
Thr	Val	Pro	Ser	
Val	Pro	Ser		
cct	ctg	gcc	ccc	432
tcc	acc	acc	tcc	
130	135	140		
Pro	Leu	Ala	Pro	
Leu	Ala	Pro	Ser	
Ala	Pro	Ser	Ser	
Pro	Ser	Ser	Lys	
Ser	Lys	Ser	Thr	
Lys	Ser	Thr	Ser	
Ser	Thr	Ser	Gly	
Thr	Ser	Gly	Gly	
Ser	Gly	Gly	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ala	
Gly	Gly	Ala	Ala	
Gly	Gly	Ala	Leu	
Gly	Gly	Leu	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser	
Gly	Gly	Ser	Ile	
Gly	Gly	Ile	Leu	
Gly	Gly	Leu	Asn	
Gly	Gly	Asn	Ser	
Gly	Gly	Ser	Leu	
Gly	Gly	Leu	Thr	
Gly	Gly	Thr	Ser</	

# ES 2 886 443 T3

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Asp				
260	265	270		
cct gaa gtg aag ttc aat tgg tac gtg gac ggc gtg gaa gtg cac aac				864
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn				
275	280	285		
gcc aag acc aag ccc aga gag gaa cag tac aac tcc acc tac cgg gtg				912
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val				
290	295	300		
gtg tcc gtg ctg acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aaa gaa				960
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu				
305	310	315	320	
tac aag tgc aag gtt tcc aac aag gcc tgg cct gcc ccc atc gaa aag				1008
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Trp Pro Ala Pro Ile Glu Lys				
325	330	335		
acc atc tcc aag gcc aag ggc cag ccc gag ccc cag gtg tac acc				1056
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr				
340	345	350		
ctg ccc cct agc cgg gac gag ctg acc aag aac cag gtg tcc ctg acc				1104
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr				
355	360	365		
tgt ctg gtg aaa ggc ttc tac ccc tcc gat atc gcc gtg gaa tgg gag				1152
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu				
370	375	380		
tcc aac ggc cag ccc gag aac aac tac aag acc acc ccc cct gtg ctg				1200
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu				
385	390	395	400	
gac tcc gac ggc tca ttc ctg tac tcc aag ctg acc gtg gac aag				1248
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys				
405	410	415		
tcc cgg tgg cag cag ggc aac gtg ttc tcc tgc tcc gtg atg cac gag				1296
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu				
420	425	430		
gcc ctg cac aat cac tac acc cag aag tcc ctg tcc ctg agc ccc ggc				1344
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly				
435	440	445		
aag tga				1350
Lys				

## REIVINDICACIONES

1. Anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 31 a 35 de SEQ ID NO: 2, una CDR2 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 50 a 65 de SEQ ID NO: 2 y una CDR3 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 98 a 108 de SEQ ID NO: 2, una región variable de cadena ligera que comprende una CDR1 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 24 a 38 de SEQ ID NO: 4, una CDR2 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 54 a 60 de SEQ ID NO: 4 y una CDR3 que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 93 a 101 de SEQ ID NO: 4, y una región constante de cadena pesada que es una región constante de Ig $\gamma$ 1 humana que tiene las mutaciones de aminoácidos S239D, H268D y L328W.
2. Anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en los siguientes (1) a (4):
  - (1) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 119 de SEQ ID NO: 6, una región variable de cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 112 de SEQ ID NO: 8 y una región constante de cadena pesada que es una región constante de Ig $\gamma$ 1 humana que tiene las mutaciones de aminoácidos S239D, H268D y L328W;
  - (2) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 119 de SEQ ID NO: 2, una región variable de cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 112 de SEQ ID NO: 4 y una región constante de cadena pesada que es una región constante de Ig $\gamma$ 1 humana que tiene las mutaciones de aminoácidos S239D, H268D y L328W;
  - (3) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una región variable de cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 119 de SEQ ID NO: 10, una región variable de cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 112 de SEQ ID NO: 12 y una región constante de cadena pesada que es una región constante de Ig $\gamma$ 1 humana que tiene las mutaciones de aminoácidos S239D, H268D y L328W; y
  - (4) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que deriva de modificación postraduccional del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de uno cualquiera de (1) a (3) anteriores, en el que la modificación postraduccional se selecciona de escisión de lisina en el extremo C-terminal de la cadena pesada mediante una carboxipeptidasa; modificación de glutamina o ácido glutámico en el extremo N-terminal de la cadena pesada y la cadena ligera a ácido piroglutámico mediante piroglutamilación; glicosilación; oxidación; desamidación; y glicación.
3. Anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 1 ó 2, seleccionado del grupo que consiste en los siguientes (1) a (4):
  - (1) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8;
  - (2) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 2 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4;
  - (3) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 10 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12; y
  - (4) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que deriva de modificación postraduccional del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de uno cualquiera de (1) a (3) anteriores, en el que la modificación postraduccional se selecciona de escisión de lisina en el extremo C-terminal de la cadena pesada mediante una carboxipeptidasa; modificación de glutamina o ácido glutámico en el extremo N-terminal de la cadena pesada y la cadena ligera a ácido piroglutámico mediante piroglutamilación; glicosilación; oxidación; desamidación; y glicación.
4. Anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 3, seleccionado del grupo que consiste en los siguientes (1) a (6):
  - (1) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de

- aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8;
- 5 (2) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 6, en la que la glutamina de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8;
- 10 (3) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 2 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4;
- 15 (4) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 2 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4;
- 20 (5) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 10 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12; y
- 25 5. Anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 4, que es un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8.
- 30 6. Anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 4, que es un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 6, en la que la glutamina de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8.
- 35 7. Polinucleótido que consiste en los siguientes (1) y (2):
- (1) un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según (1) a (3) según la reivindicación 2; y
- 40 (2) un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según (1) a (3) según la reivindicación 2.
- 45 8. Polinucleótido que consiste en los siguientes (1) y (2):
- (1) un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 5; y
- (2) un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 5.
- 50 9. Vector de expresión que comprende los siguientes (1) y (2):
- (1) un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según (1) a (3) según la reivindicación 2; y/o
- 55 (2) un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según (1) a (3) según la reivindicación 2.
- 60 10. Vector de expresión que comprende los siguientes (1) y/o (2):
- (1) un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 5; y/o
- (2) un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 5.

11. Célula huésped seleccionada del grupo que consiste en los siguientes (a) a (d):
- (a) una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según (1) a (3) según la reivindicación 2 y un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo;
- (b) una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según (1) a (3) según la reivindicación 2 y un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo;
- (c) una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según (1) a (3) según la reivindicación 2; y
- (d) una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según (1) a (3) según la reivindicación 2.
12. Célula huésped seleccionada del grupo que consiste en los siguientes (a) a (d):
- (a) una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 5 y un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo;
- (b) una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 5 y un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo;
- (c) una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 5; y
- (d) una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 5.
13. Método para producir un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende cultivar una(s) célula(s) huésped seleccionada(s) del grupo que consiste en los siguientes (a) a (c) para expresar el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana:
- (a) una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según (1) a (3) según la reivindicación 2 y un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo;
- (b) una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según (1) a (3) según la reivindicación 2 y un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo; y
- (c) una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según (1) a (3) según la reivindicación 2 y una célula huésped transformada con un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo.
14. Método para producir un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende cultivar una(s) célula(s) huésped seleccionada(s) del grupo que consiste en los siguientes (a) a (c) para expresar el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana:
- (a) una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 5 y un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la

- cadena ligera del anticuerpo;
- (b) una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 5 y un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo; y
- (c) una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena pesada del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 5 y una célula huésped transformada con un vector de expresión que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo.
15. 15. Composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana seleccionado del grupo que consiste en los siguientes (a) a (c) y un excipiente farmacéuticamente aceptable:
- (a) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8 y/o un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 6, en la que la glutamina de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8;
- (b) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 2 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4 y/o un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 2 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4; y
- (c) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 10 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12 y/o un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 10 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 12.
35. 16. Composición farmacéutica según la reivindicación 15, que comprende:
- (1) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8; y/o
- (2) un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 6, en la que la glutamina de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8.
45. 17. Composición farmacéutica según la reivindicación 16, para su uso en un método para prevenir o tratar una enfermedad autoinmunitaria.
50. 18. Anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8 y/o un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que comprende una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de los números de aminoácido 1 a 448 de SEQ ID NO: 6, en la que la glutamina de número de aminoácido 1 se modifica a ácido piroglutámico, y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 8, para su uso en un método para prevenir o tratar una enfermedad autoinmunitaria.
55. 19. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 17 o anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana para su uso según la reivindicación 18, en los que la enfermedad autoinmunitaria es lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide o púrpura trombocitopénica idiopática.
60. 20. Anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana según la reivindicación 2, que es (i) una forma fusionada del anticuerpo y otro péptido u otra proteína o (ii) un anticuerpo al que se le ha unido un agente modificador (forma modificada), en el que la actividad de unión de la forma fusionada o de la forma modificada del anticuerpo no disminuye, en el que el agente modificador se selecciona de polietilenglicol, cadenas de azúcares, fosfolípidos, liposomas y compuestos de bajo peso molecular.
65. 21. Anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana producido mediante un método según las reivindicaciones 13 ó 14.

Fig. 1

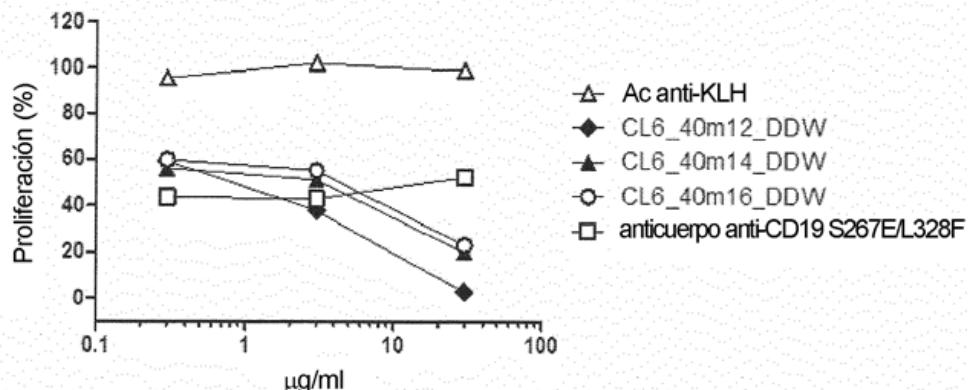


Fig. 2

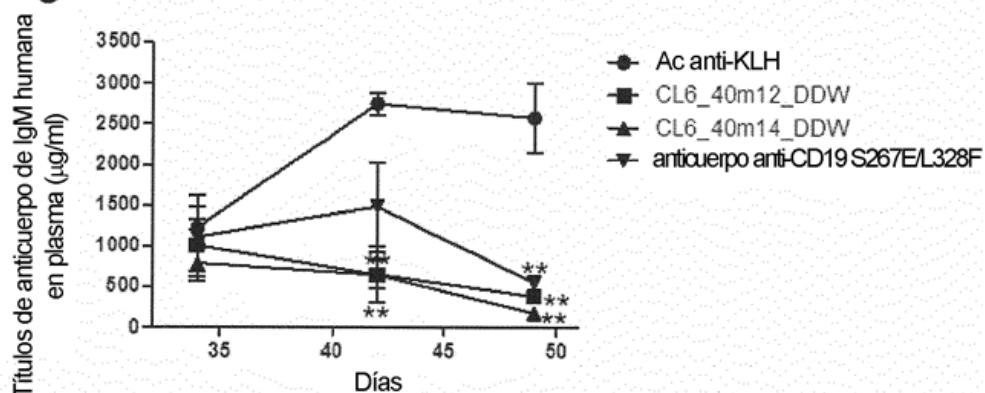


Fig. 3

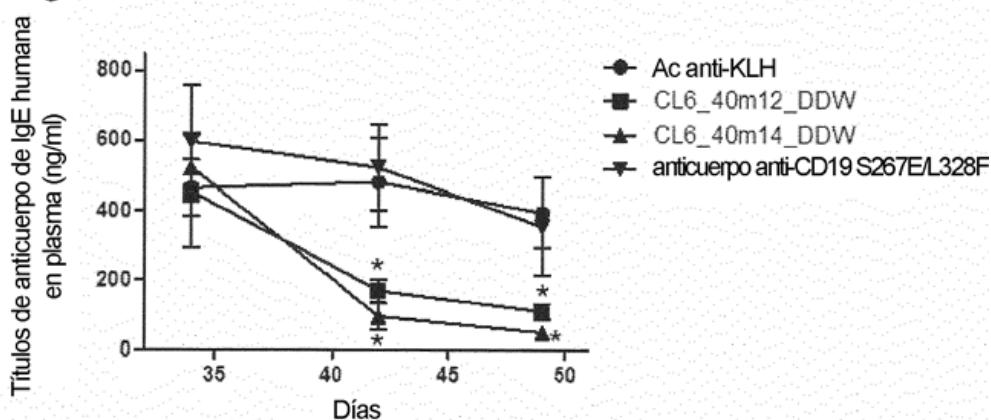


Fig. 4

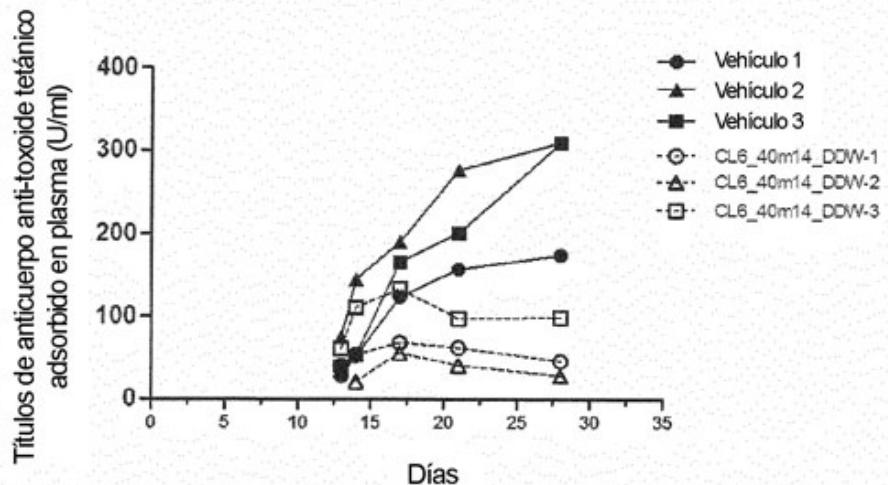


Fig. 5

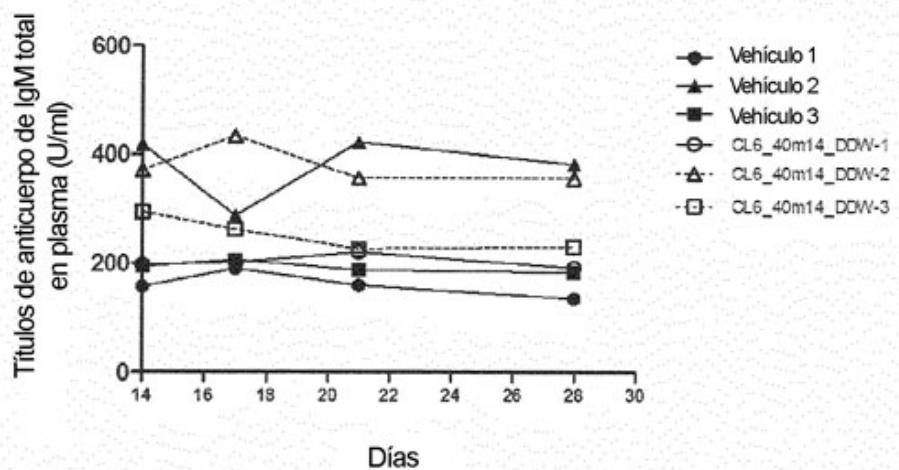


Fig. 6

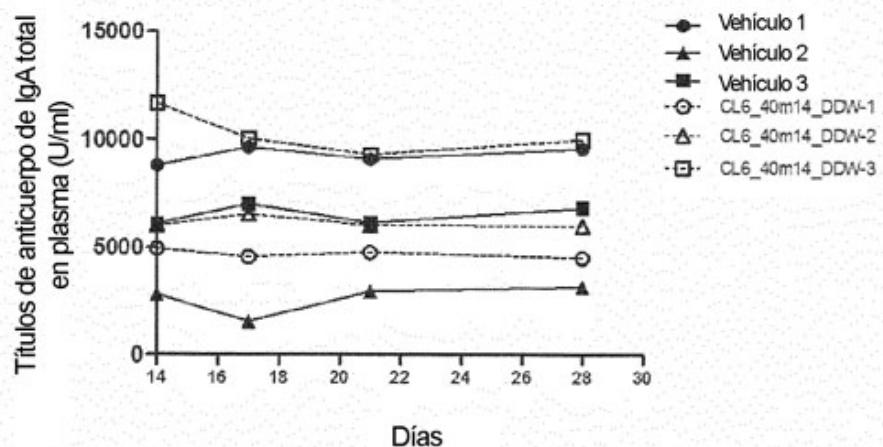


Fig. 7

