

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



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

51 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

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.08.2015 PCT/JP2015/072162**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.02.2016 WO16021621**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.08.2015 E 15829154 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.08.2021 EP 3178929**

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

30 Prioridad:

**06.08.2014 JP 2014160141**

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

**20.12.2021**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

**BERTRÁN VALLS, Silvia**

### Observaciones:

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

ES 2 886 443 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-Igβ 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 (mIg) ensambladas con heterodímeros de Igα (CD79A) e Igβ (CD79B). Un antígeno se une a la mIg y permite la agregación de los receptores, y una subunidad Igα/Igβ 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 Fcγ (FcγR), que es un receptor de Fc contra un anticuerpo IgG, se han notificado FcγRIa (CD64A), FcγRIIa (CD32A) y FcγRIIIa (CD16A), que tienen funciones inmunoactivas, y FcγRIIb (CD32B), que tiene funciones inmunosupresoras. Se ha notificado que, cuando se reticulan el BCR y FcγRIIb en células B a través de un inmunocomplejo de IgG, se suprime una actividad de las células B y, por tanto, se suprimen 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).

Se ha notificado que el control de la actividad de las células B a través de tal FcγRIIb 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 FcγRIIb, 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 FcγRIIb en células B de memoria de pacientes con artritis reumatoide está disminuida (J. Immunol., vol. 190, págs. 6015-6022, 2013).

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 FcγRIIb 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 FcγRIIb, 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 FcγRIIb 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 FcγRIIb y la frecuencia de apariciones de lupus eritematoso sistémico (Arthritis Rheum., vol. 46, págs. 1242-1254, 2002).

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

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).

Por tanto, si se pudiese desarrollar un anticuerpo monoclonal que reticule el BCR y FcγRIIb y aumente una función inmunosupresora de FcγRIIb, 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.

Como anticuerpo que reticula el BCR y FcγRIIb, se notifican DART, que es un anticuerpo biespecífico contra Igβ y FcγRIIb (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 FcγRIIb 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.

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

El documento WO2008/150494 se refiere a inmunoglobulinas que se unen a células Fc $\gamma$ R1b<sup>+</sup> y acoplan conjuntamente el antígeno en la superficie celular y un Fc $\gamma$ R1b en la superficie celular, tal como un anticuerpo anti-79b-S267E/L328F.

#### Técnica relacionada

##### Documentos de patente

[Documento de patente 1] WO 2012/018687

[Documento de patente 2] WO 2008/150494

##### Documentos no de patente

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

[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

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

Un objeto de la presente invención es proporcionar un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana que reticule el BCR y Fc $\gamma$ R1b y tenga una función inmunosupresora más potenciada que la de un anticuerpo de la técnica anterior.

##### 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).

La invención se divulga en las reivindicaciones adjuntas.

##### Efectos de la invención

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 inhibitor 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 inhibitor 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 inhibitor 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 inhibitor 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.
- 45
- 50

- 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

- 65 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.

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

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

Un 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.

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 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.ºs 5225539, 6180370 y similares.

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):

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 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;

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 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

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.

El número de residuo con respecto a la introducción de mutaciones de aminoácidos en una región constante de anticuerpo usado en la presente memoria descriptiva sigue el índice EU (Kabat *et al.* 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª ed., United States Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda). S239D es la sustitución de la serina en la posición 239ª 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 268ª 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 leucina en la posición 328ª 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.

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):

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;

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

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.

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).

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 delección 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 delección de lisina en el extremo C-terminal no tiene ninguna influencia sobre la actividad del anticuerpo (Analytical Biochemistry, vol. 348, págs. 24-39, 2006).

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):

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;

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

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.

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):

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;

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

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.

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.

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 inmunoabsorción 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 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 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.

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.

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.

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.

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 antifosfolípidos, vasculitis asociada a ANCA, síndrome de Sjögren, enfermedad de Hashimoto, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica o síndrome de fatiga crónica.

<Polinucleótido de la presente invención>

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.

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.

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.

En una realización, el polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo anti-Ig $\beta$  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.

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.

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>

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

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-Ig $\beta$  humana de la presente invención y/o un polinucleótido que comprende la secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo anti-Ig $\beta$  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.).

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.

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):

(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-Ig $\beta$  humana de la presente invención y un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo;

(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-Ig $\beta$  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;

(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-Ig $\beta$  humana de la presente invención; y

(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-Ig $\beta$  humana de la presente invención.

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-Ig $\beta$  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-Ig $\beta$  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.

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. 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.

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.

<Método de producción del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención y anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana producido mediante el método>

El método para producir el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención incluye un método para producir un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana cultivando 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 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-Ig $\beta$  humana de la presente invención y un polinucleótido que comprende una secuencia de bases que codifica para la cadena ligera del anticuerpo;

(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-Ig $\beta$  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

(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-Ig $\beta$  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.

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, 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 aproximadamente 20°C a 35°C durante de aproximadamente 14 horas a 144 horas mientras se ventila con aire y se agita, si fuera necesario. Llevando a cabo el cultivo de la manera anteriormente descrita, es posible expresar el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención.

El método de producción del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención puede incluir recuperar, preferiblemente aislar o purificar, el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana a partir de la célula huésped transformada además de cultivar la célula huésped transformada de la presente invención para expresar el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana. Los ejemplos del método de aislamiento o purificación incluyen métodos que usan la solubilidad tales como precipitación por adición de sales y el método de precipitación con disolvente, métodos que usan la diferencia de peso molecular tales como diálisis, ultrafiltración y filtración en gel, métodos que usan una carga eléctrica tales como cromatografía de intercambio iónico y cromatografía de hidroxipatita, métodos que usan la afinidad específica tales como cromatografía de afinidad, métodos que usan la diferencia de hidrofobicidad tales como cromatografía de líquidos de alta resolución de fase inversa y métodos que usan la diferencia de punto isoelectrico tales como forésis de enfoque isoelectrico. Preferiblemente, el anticuerpo acumulado en un sobrenadante de cultivo puede purificarse mediante diversas cromatografías, por ejemplo, cromatografía en columna usando una columna de proteína A o una columna de proteína G.

El anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención también incluye un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana producido mediante el método para producir el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención.

#### <Composición farmacéutica de la presente invención>

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención y excipientes farmacéuticamente aceptables. La composición farmacéutica de la presente invención puede prepararse mediante un método que se usa generalmente con excipientes, es decir, excipientes para medicina o portadores para medicina que se usan generalmente en el campo. Los ejemplos de formas de dosificación de las composiciones farmacéuticas incluyen fármaco parenteral tal como un fármaco de inyección y fármaco de infusión por goteo, y estos pueden administrarse mediante administración intravenosa, administración subcutánea o similares. En la preparación de fármacos, pueden usarse excipientes, portadores y aditivos según la forma de dosificación dentro del intervalo farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden incluir varias clases de anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de la presente invención. Por ejemplo, la presente invención incluye una composición farmacéutica que comprende

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

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

(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; y

(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.

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 postraducciona 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 postraducciona 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 postraducciona en el extremo N-terminal.

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):

(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: 2 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 4;

(2) 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 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 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

(4) 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.

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):

(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: 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 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;

(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

(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.

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):

(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;

(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;

(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

(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.

Además, en una realización, la composición farmacéutica de la presente invención es una composición farmacéutica descrita a continuación:

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.

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.

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 antifosfolípidos, vasculitis asociada a ANCA, síndrome de Sjögren, enfermedad de Hashimoto, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, síndrome de fatiga crónica o similares.

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.

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 Ig $\beta$ humana y de mono-Flag)

Se adquirieron una proteína en la que una etiqueta Flag se une a Ig $\beta$  humana (proteína Ig $\beta$  humana-Flag) y una proteína en la que una etiqueta Flag se une a Ig $\beta$  de mono (proteína Ig $\beta$  de mono-Flag). Se introdujo un gen de Ig $\beta$  humana-Flag (SEQ ID NO: 13) en un vector GS pEE6.4 (Lonza Biologics, Inc.). Se introdujo un gen de Ig $\beta$  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 Ig $\beta$  humana-Flag y proteína Ig $\beta$  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-Ig $\beta$ humana)

20 Con el fin de adquirir un anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana, se inyectaron la proteína Ig $\beta$  humana-Flag y la proteína Ig $\beta$  de mono-Flag adquiridas en el ejemplo 1 a un ratón C3H/HeJmsSlc-lpr/lpr (Japan SLC, Inc.) junto con un adyuvante para provocar una reacción inmunitaria para realizar la inmunización. Al ratón se le inmunizó 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 monoclonó 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 Ig $\beta$  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 Ig $\beta$  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 Ig $\gamma$ 1 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  $\kappa$  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 transfectó 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.). Después 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 IgG 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. Después 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 IgG 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  $CE_{50}$  de los anticuerpos de prueba ajustando una curva.

Como resultado, los valores de  $CE_{50}$  con respecto a las proteínas Ig $\beta$  humana y de mono-Flag de CL6\_40m12\_DDW fueron respectivamente de 128 ng/ml y 183 ng/ml. Los valores de  $CE_{50}$  con respecto a las proteínas Ig $\beta$  humana y de mono-Flag de CL6\_40m14\_DDW fueron respectivamente de 100 ng/ml y 106 ng/ml. Los valores de  $CE_{50}$  con respecto a las proteínas Ig $\beta$  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 Ig $\beta$  humana y de mono-Flag.

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

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 (AICells, 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  $\mu$ l 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  $\mu$ g/ml) de cada uno de los anticuerpos humanizados adquiridos en el ejemplo 3 usando tampón de tinción y se añadieron a lo mismo 30  $\mu$ l 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  $\mu$ l de una disolución que tenía un fragmento Fc $\gamma$  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 alofocianina (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.

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.

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

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 Fc $\gamma$ RIIb moviliza el Fc $\gamma$ RIIb 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 (AICells, Inc.) en una cantidad de 30000 por pocillo en una placa de 96 pocillos (Iwaki, Co., Ltd.) usando 60  $\mu$ l 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  $\mu$ g/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  $\mu$ l usando el medio de cultivo RPMI. Se añadieron 20  $\mu$ l 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  $\mu$ g/ml y se incubó en una incubadora de CO $_2$  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.

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.

Tal como se muestra en la figura 1, mientras que la tasa de proliferación en 30  $\mu$ g/ml de anticuerpo anti-CD19 S267E/L328F fue del 52,3%, las tasas de proliferación en 30  $\mu$ g/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 inhibitoras 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 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.

Se suspendieron PBMC humanas (AICells, 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 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.

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  $\pm$  error 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).

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 administración (día 49).

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.

Tal como se muestra en las figuras 2 y 3, resulta evidente que tanto CL6\_40m12\_DDW como CL6\_40m14\_DDW anteriormente descritos tienen fuertes actividades inhibitoras con respecto a un aumento del título de anticuerpo humano en comparación con el anticuerpo anti-CD19 S267E/L328F.

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

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.

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  $\mu$ l 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 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. Después 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 policlonal de conejo anti-IgM de mono (COVANCE, Inc.) y un anticuerpo policlonal 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 µl, 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-Igβ 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-Igβ 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 Igβ 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 Igβ 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>

<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	48
Glu Val Gln Met Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
1 5 10 15	
tcc ctg aga ctg tct tgt gcc gtg tcc ggg ttt tca ctg tcc agc tat	96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr	
20 25 30	
agt gtg cac tgg gtc cga cag gca cca ggg aag ggt ctg gag tgg gtg	144
Ser Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
35 40 45	
gca gga atc tgg tca gga gga tcc att cat tat acc cct gcc ctg tct	192
Ala Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Tyr Thr Pro Ala Leu Ser	
50 55 60	
agt aga ttc aca gtg agc cgc gac gat tct aaa aac aca gtc tac ctg	240
Ser Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu	
65 70 75 80	
cag atg aat agc ctg agg gcc gag gac acc gct gtc tac tat tgc gct	288
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala	
85 90 95	
aga tac gac cgg tat gaa act tac gca atg gat tac tgg ggc cag gga	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	

# 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 145 150 155 160			480
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 165 170 175			528
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 Ser Val Val Thr Val Pro Ser 180 185 190			576
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 195 200 205			624
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 210 215 220			672
act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg Thr His Thr Cys Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro 225 230 235 240			720
gac gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser 245 250 255			768
cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc gac gaa gac Arg Thr Pro Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Asp 260 265 270			816
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 275 280 285			864
gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val 290 295 300			912
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 305 310 315 320			960
tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc tgg cca gcc ccc atc gag aaa Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Trp Pro Ala Pro Ile Glu Lys 325 330 335			1008
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 340 345 350			1056
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 355 360 365			1104
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 370 375 380			1152
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 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>  
10 <223> Constructo sintético

<400> 2  
Glu Val Gln Met Val Glu Ser Gly 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																	
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

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

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

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(657)

<400> 3

gac atc cag ctg acc cag tcc ccc tcc agc ctg tcc gcc tct gtg ggc 48  
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

gac aga gtg acc atc aca tgc aag gcc tcc cag tcc gtg gac tac gac 96  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp  
20 25 30

ggc gac tcc tac atg aac tgg tat cag cag aag ccc ggc aag gcc ccc 144  
Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
35 40 45

aag ctg ctg atc tac gcc gcc tcc aac ctg gaa tcc ggc gtg ccc tcc 192  
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser  
50 55 60

aga ttc tcc ggc tcc ggc tct ggc acc gac ttc acc ctg acc atc tcc 240  
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
65 70 75 80

agc ctg cag ccc gag gac ttc gcc acc tac tac tgc cag cag tcc aac 288  
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn  
85 90 95

gag gac ccc ctg acc ttc ggc cag ggc acc aag gtg gaa atc aag cgt 336  
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 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	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											

5 <210> 4  
 <211> 218  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Constructo sintético

<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>					
10	<223> Cadena H del anticuerpo anti-Ig-beta humana					
	<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					48
	Gln Val Gln Met Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln					
	1		5		10	15
	act ctg tca ctg act tgt act gtc tca ggg ttc tca ctg tcc agc tat					96
	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr					
		20		25		30
	tcc gtg cac tgg gtc aga cag cca cct gga cga gga ctg gag tgg atc					144
	Ser Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile					
		35		40		45
	ggc gga att tgg agc ggg ggt tct atc cat tac aca cca gct ctg tct					192
	Gly Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Tyr Thr Pro Ala Leu Ser					
		50		55		60
	agt cga gtg act gtc ctg agg gac acc agt aag aac cag gtg agc ctg					240
	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	
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 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 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 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 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			
cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg 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 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	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>	6															
<211>	449															
5	<212>	PRT														
	<213>	Secuencia artificial														
	<220>															
10	<223>	Constructo sintético														
	<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>

10 <223> Cadena L del anticuerpo anti-Ig-beta humana

<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	48
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
1 5 10 15	

gac aga gtg acc atc aca tgc aag gcc tcc cag tcc gtg gac tac gac	96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp	
20 25 30	

ggc gac tcc tac atg aac tgg tat cag cag aag ccc ggc aag gcc ccc	144
Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro	
35 40 45	

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	ttc	tcc	ggc	tcc	ggc	tct	ggc	acc	gac	ttc	acc	ttc	acc	atc	tcc	240	
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	288	
Ser	Leu	Gln	Pro		85	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Asn		
									90					95			
gag	gac	ccc	ctg	acc	ttc	ggc	cag	ggc	acc	aag	gtg	gaa	atc	aag	cgt	336	
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	384	
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	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>	8																
<211>	218																
5	<212>	PRT															
	<213>	Secuencia artificial															
	<220>																
10	<223>	Constructo sintético															
	<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>

10 <223> Cadena H del anticuerpo anti-Ig-beta humana

<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 Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

48

# ES 2 886 443 T3

1	5	10	15	
tct ctg cgt ctg tct tgt gcc gtg tct ggg ttt agt ctg tcc agc tat				96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu 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 Leu Glu Trp Leu	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 Tyr 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 Leu 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 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	
cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc gac gaa gac				816



# 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 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 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> 10	
<211> 449	
5 <212> PRT	
<213> Secuencia artificial	
<220>	
10 <223> Constructo sintético	
<400> 10	
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly 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	48
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
1 5 10 15	
gac aga gtg acc atc aca tgc aag gcc tcc cag tcc gtg gac tac gac	96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp	
20 25 30	
ggc gac tcc tac atg aac tgg tat cag cag aag ccc ggc aag gcc ccc	144
Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro	
35 40 45	
aag ctg ctg atc tac gcc gcc tcc aac ctg gaa tcc ggc gtg ccc tcc	192
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser	
50 55 60	
aga ttc tcc ggc tcc ggc tct ggc acc gac ttc acc ctg acc atc tcc	240
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser	
65 70 75 80	
agc ctg cag ccc gag gac ttc gcc acc tac tac tgc cag cag tcc aac	288
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn	
85 90 95	
gag gac ccc ctg acc ttc ggc cag ggc acc aag gtg gaa atc aag cgt	336
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	384
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 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> 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  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Gen de fusión Ig-beta humana-Flag

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(447)

<400> 13

# ES 2 886 443 T3

```

gcc aga tcg gag gac cgg tac cgg aat ccc aaa ggt agt gct tgt tcg      48
Ala Arg Ser Glu Asp Arg Tyr Arg Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys Ser
1          5          10          15

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
          20          25          30

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
          35          40          45

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
          50          55          60

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
          65          70          75          80

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
          85          90          95

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
          100          105          110

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
          115          120          125

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
          130          135          140

gac gat gac gat aaa tga      450
Asp Asp Asp Asp Lys
145

```

<210> 14  
 <211> 453  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Gen de fusión Ig-beta de mono-Flag

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(450)

<400> 14

# ES 2 886 443 T3

```

gcc aaa tca gag gac ctg tac ccg aat ccc aaa ggt agt gct tgt tct      48
Ala Lys Ser Glu Asp Leu Tyr Pro Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys Ser
1          5          10          15

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
          20          25          30

gtg aaa atg cac tgc tac gtg acc aac agc acc ttc agc atc gtg agc      144
Val Lys Met His Cys Tyr Val Thr Asn Ser Thr Phe Ser Ile Val Ser
          35          40          45

tgg ctc cgg aag cgg gag acg gac aag gag ccc caa cag gtg aac ctg      192
Trp Leu Arg Lys Arg Glu Thr Asp Lys Glu Pro Gln Gln Val Asn Leu
          50          55          60

gag cag ggc cac atg cat cag acc caa aac agc tct gtc acc acc ctc      240
Glu Gln Gly His Met His Gln Thr Gln Asn Ser Ser Val Thr Thr Leu
65          70          75          80

atc atc caa gac atc cgg ttt gag gac aac ggc atc tac ttc tgt cag      288
Ile Ile Gln Asp Ile Arg Phe Glu Asp Asn Gly Ile Tyr Phe Cys Gln
          85          90          95

cag gag tgc agc aag acc tcg gag gtc tac cgg ggc tgc ggc acg gag      336
Gln Glu Cys Ser Lys Thr Ser Glu Val Tyr Arg Gly Cys Gly Thr Glu
          100          105          110

ctg cga gtc atg ggg ttc agc acc ttg gca cag ctg aag cag agg aac      384
Leu Arg Val Met Gly Phe Ser Thr Leu Ala Gln Leu Lys Gln Arg Asn
          115          120          125

acg ctg aag gat tcg tca gca gac ctg gtt ccg cgc gga tcc gac tac      432
Thr Leu Lys Asp Ser Ser Ala Asp Leu Val Pro Arg Gly Ser Asp Tyr
          130          135          140

aag gac gat gac gat aaa tga      453
Lys Asp Asp Asp Asp Lys
145          150

```

<210> 15  
 <211> 1350  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 10 <223> Cadena H del anticuerpo anti-Ig-beta humana

<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      48
Glu Val Gln Met Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

```

# ES 2 886 443 T3

1	5	10	15	
tct ctg aga ctg tcc tgc gcc gtg tcc ggc ttc agc ctg tcc tcc tac				96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr	20	25	30	
tcc gtg cac tgg gtc cga cag gcc cct ggc aag gga ctg gaa tgg gtg				144
Ser Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	35	40	45	
gcc ggc att tgg agc ggc ggc tcc atc cac tac acc cct gcc ctg tcc				192
Ala Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Tyr Thr Pro Ala Leu Ser	50	55	60	
tcc cgg ttc acc gtg tcc cgg gac gac tcc aag aac acc gtg tac ctg				240
Ser Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu	65	70	75	80
cag atg aac tcc ctg cgg gcc gag gac acc gcc gtg tac tac tgc gcc				288
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala	85	90	95	
cgc tac gac aga tac gag aca tac gcc atg gac 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 gtg aca gtg tcc tcc gcc tcc acc aag ggc ccc tcc gtg ttc				384
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe	115	120	125	
cct ctg gcc ccc tcc agc aag tcc acc tct ggc ggc acc gct 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 gtg aaa gac tac ttc ccc gag ccc gtg acc gtg tcc tgg				480
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp	145	150	155	160
aac tct ggc gcc ctg acc tcc ggc gtg cac acc ttc cct gcc gtg ctg				528
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu	165	170	175	
cag tcc tcc ggc ctg tac tcc ctg tcc 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 tct ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac cac aag ccc				624
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro	195	200	205	
tcc aac acc aag gtg gac aag aag gtg gaa ccc aag tcc tgc gac aag				672
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys	210	215	220	
acc cac acc tgt ccc cct tgc cct gcc cct gag ctg ctg ggc gga ccc				720
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro	225	230	235	240
gat gtg ttt ctg ttc ccc cca aag ccc aag gac acc ctg atg atc tcc				768
Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser	245	250	255	
cgg acc ccc gaa gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg tcc gac gag gac				816



# 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	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	cgc	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	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 postraducciona del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de uno cualquiera de (1) a (3) anteriores, en el que la modificación postraducciona 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 postraducciona del anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana de uno cualquiera de (1) a (3) anteriores, en el que la modificación postraducciona 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

(6) 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 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.

8. Polinucleótido que consiste en los siguientes (1) y (2):

45 (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.

10. Vector de expresión que comprende los siguientes (1) y/o (2):

60 (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.

65

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. 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.

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.

17. Composición farmacéutica según la reivindicación 16, para su uso en un método para prevenir o tratar una enfermedad autoinmunitaria.

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.

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.

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.

21. Anticuerpo anti-Ig $\beta$  humana producido mediante un método según las reivindicaciones 13 ó 14.

Fig. 1

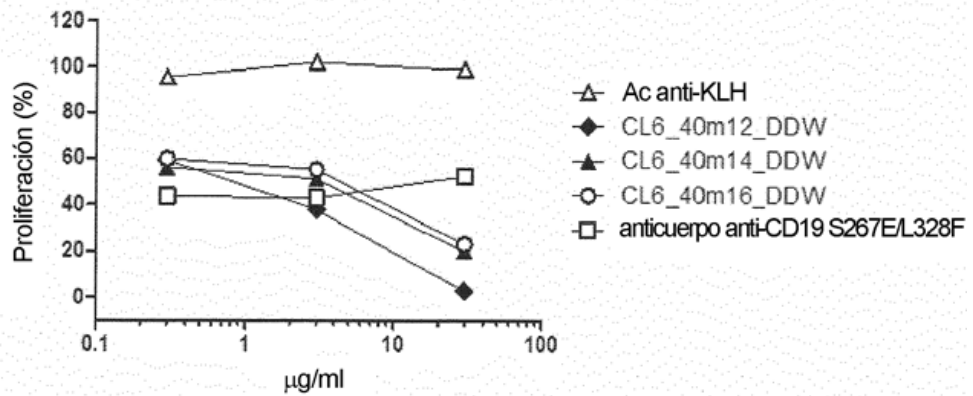


Fig. 2

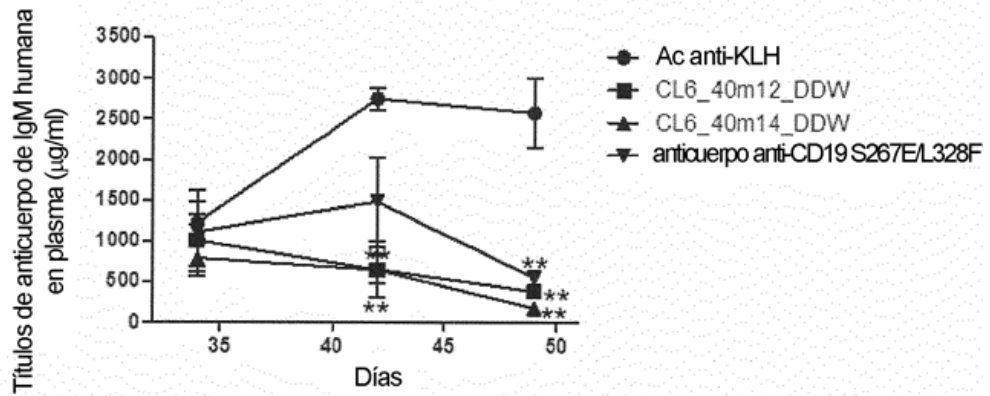


Fig. 3

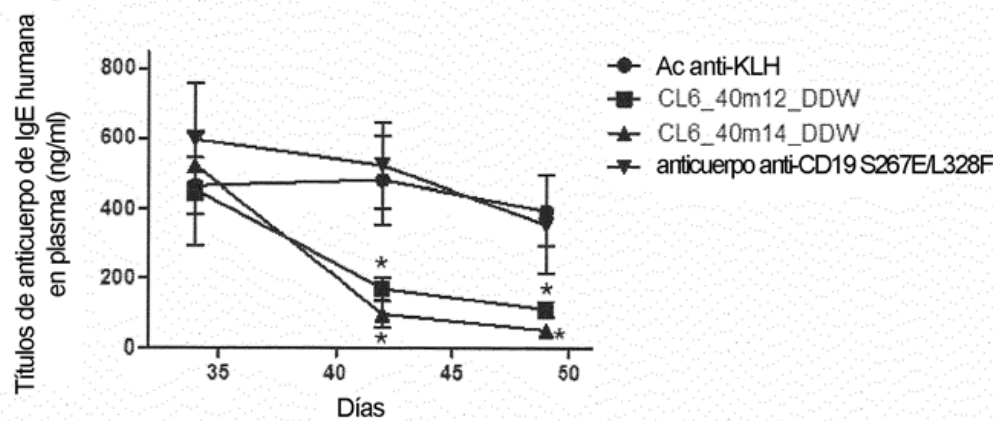


Fig. 4

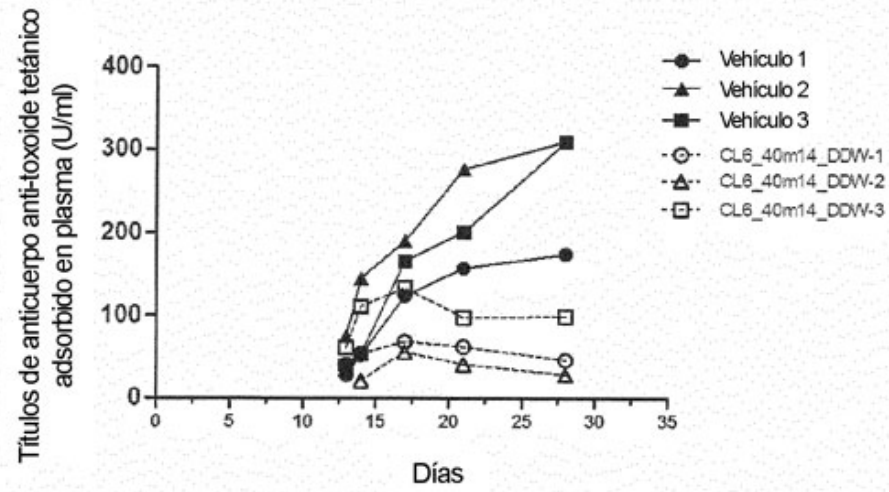


Fig. 5

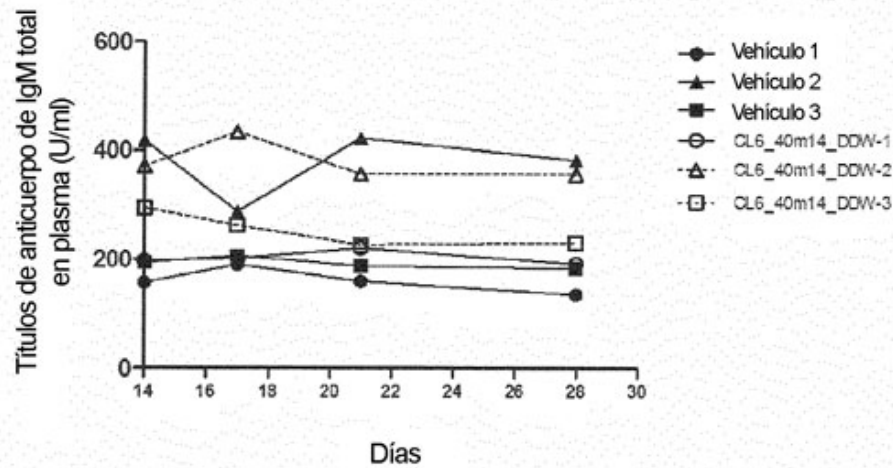


Fig. 6

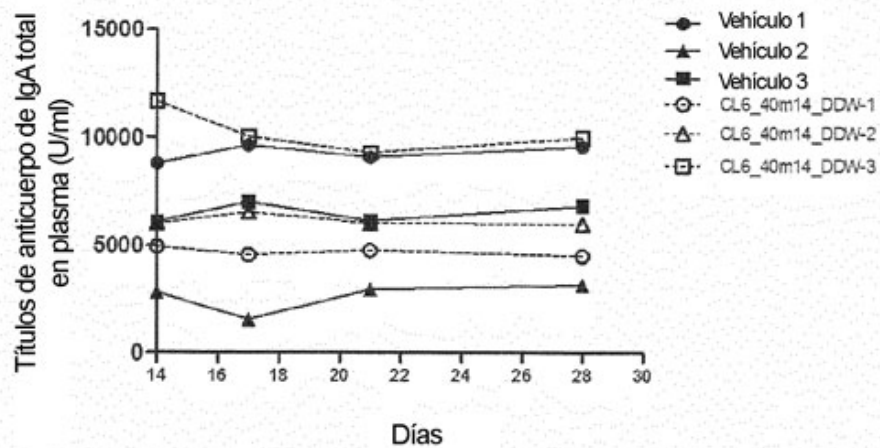


Fig. 7

