



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0611414-8 A2**

(22) Data de Depósito: 25/05/2006
(43) Data da Publicação: 08/09/2010
(RPI 2070)



(51) *Int.Cl.:*
A61K 39/395
C12P 21/08

(54) Título: **PROTEÍNA LIGANTE DE TWEAK, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO A REFERIDA PROTEÍNA, MÉTODO PARA PRODUZIR UM ANTICORPO E USO DA REFERIDA COMPOSIÇÃO**

(57) Resumo: PROTEÍNA LIGANTE DE TWEAK, COMPOSIÇÃO FARMACEUTICA COMPREENDENDO A REFERIDA PROTEÍNA, MÉTODO PARA PRODUZIR UM ANTICORPO E USO DA REFERIDA COMPOSIÇÃO. A presente invenção refere-se a anticorpos anti-TWEAK.

(30) Prioridade Unionista: 27/05/2005 US 60/685,149

(73) Titular(es): BIOGEN IDEC MA INC

(72) Inventor(es): ALEXEY LUGOVSKOY, ELLEN GARBER, LINDA C. BURKLY

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2006019706 de 25/05/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2006/130374 de 07/12/2006

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"PROTEÍNA
LIGANTE DE TWEAK, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREEN-
DENDO A REFERIDA PROTEÍNA, MÉTODO PARA PRODUIR UM
ANTICORPO E USO DA REFERIDA COMPOSIÇÃO".**

5 REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS DE PATENTE RELACIONADOS

Este pedido de patente reivindica prioridade para o pedido de patente nº de série US 60/685.149, depositado em 27 de maio de 2005, cujo teor é aqui incorporado como referência em sua totalidade.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

10 As citocinas relacionadas ao fator de necrose tumoral (TNF) são uma superfamília de proteínas que têm uma série de funções, incluindo aquelas implicadas na regulação imunológica e na regulação apoptótica. TWEAK (indutor fraco de apoptose semelhante a TNF) é um membro desta superfamília.

15 SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Os anticorpos anti-TWEAK podem ser usados para tratar uma série de condições e distúrbios, como por exemplo, um distúrbio inflamatório, um distúrbio neuronal ou outro distúrbio aqui descrito. Quando usado para tratar um ser humano, o anticorpo é, de preferência, um anticorpo humano,
20 humanizado ou de outra forma efetivamente humano.

Em um aspecto, a invenção refere-se a uma proteína que inclui uma primeira e uma segunda sequências do domínio variável da imunoglobulina, e que se liga a TWEAK, por exemplo, TWEAK humana. A proteína pode se ligar a TWEAK, por exemplo, com uma afinidade correspondente a
25 uma K_D menor do que 10^{-7} M, por exemplo, 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} M ou melhor. A proteína é aqui referida também como "anticorpo anti-TWEAK". A primeira e a segunda sequências do domínio variável da imunoglobulina podem incluir pelo menos uma parte suficiente de um domínio variável da imunoglobulina para formar um sítio de ligação de antígeno que se liga a
30 TWEAK. Tipicamente, a primeira e a segunda sequências do domínio variável da imunoglobulina correspondem a sequências do domínio variável da imunoglobulina da cadeia pesada e leve, respectivamente, por exemplo,

uma cadeia pesada e leve emparelhada ou compatível de outra forma.

O anticorpo pode se ligar a um epítipo em TWEAK, que inclui pelo menos um, dois, três ou quatro resíduos de aminoácidos de um epítipo em TWEAK reconhecido por P2D10, a um peptídeo de TWEAK que está
5 ligado por P2D10 (por exemplo, um peptídeo com um comprimento menor do que 25, 20, ou 15 aminoácidos) ou a uma região de TWEAK reconhecida por P2D10. Por exemplo, o anticorpo se liga especificamente a um epítipo, por exemplo, um epítipo linear ou conformacional de TWEAK, particularmente TWEAK humano, por exemplo, a região solúvel de TWEAK. O anti-
10 corpo pode competir com P2D10 pela ligação a TWEAK, por exemplo, a TWEAK humano. O anticorpo pode inibir competitivamente a ligação de P2D10 a TWEAK, por exemplo, TWEAK humano. Em uma modalidade, o anticorpo pode se ligar a um epítipo que se sobrepõe àquele de P2D10, que, por exemplo, inclui pelo menos um, dois, três ou quatro aminoácidos
15 em comum com o epítipo de P2D10, ou um epítipo que, quando ligado de forma estérica, impede a interação de TWEAK com P2D10.

Por exemplo, o anticorpo anti-TWEAK pode se ligar a TWEAK e modular, por exemplo, inibir, uma interação (por exemplo, uma ligação) entre TWEAK e um receptor de TWEAK, por exemplo, Fn14 (por exemplo, Fn14
20 humano). O anticorpo pode também reduzir a atividade de sinalização de um receptor de TWEAK. O anticorpo pode visar TWEAK, sequestrar TWEAK, e/ou modular a estabilidade *in vivo* de TWEAK.

Em uma modalidade, o anticorpo se liga especificamente a pelo menos uma parte do sítio de interação em TWEAK, que entra em contato
25 com Fn14 (por exemplo, Fn14 humano). O anticorpo pode competir com Fn14 pela ligação a TWEAK, por exemplo, TWEAK humano. O anticorpo pode inibir competitivamente a ligação de Fn14 a TWEAK. O anticorpo pode interagir com um epítipo em TWEAK, o qual, quando ligado de forma estérica, impede a interação entre TWEAK e Fn14 (por exemplo, entre TWEAK
30 humano e Fn14 humano).

Em uma modalidade, o anticorpo pode inibir uma ou mais atividades associadas a TWEAK com uma CI_{50} de cerca de 50 nM a 5 pM, tipi-

camente cerca de 100 a 250 pM ou menos. Por exemplo, o anticorpo pode inibir a capacidade de TWEAK para promover a proliferação ou neovascularização de células endoteliais. Em uma modalidade, o anticorpo anti-TWEAK reduz pelo menos uma atividade associada a TWEAK, por exemplo, de tal modo que o anticorpo possa modular uma condição antiinflamatória quando
5 administrado a um indivíduo.

Em outras modalidades, o anticorpo pode se associar a TWEAK com uma cinética na faixa entre 10^3 e $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, tipicamente 10^4 a $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Em ainda outra modalidade, o anticorpo tem uma cinética de dissociação
10 na faixa entre 10^{-2} e 10^{-6} s^{-1} , tipicamente 10^{-2} a 10^{-5} s^{-1} . Em uma modalidade, o anticorpo se liga a TWEAK, por exemplo, TWEAK humano, com uma afinidade e/ou cinética similar (por exemplo, dentro de um fator de cinco ou dez) ao anticorpo monoclonal P2D10, ou formas modificadas dele, por exemplo, formas quiméricas ou formas humanizadas dele (por exemplo, uma forma
15 humanizada aqui descrita). A afinidade e a cinética de ligação do anticorpo anti-TWEAK podem ser testadas, por exemplo, usando a tecnologia de biossensores (BIAcore®).

Em uma modalidade, o anticorpo é um fragmento de ligação a antígeno de um anticorpo de comprimento inteiro, por exemplo, um fragmento Fab, F(ab')₂, Fv ou Fv de cadeia única. Tipicamente, o anticorpo é um
20 anticorpo de comprimento inteiro. O anticorpo pode ser um anticorpo monoclonal ou um anticorpo monoespecífico. Por exemplo, o anticorpo está em uma composição que inclui menos do que 20 outras espécies de anticorpos anti-TWEAK, por exemplo, em uma composição que não inclui outra espécie
25 de anticorpo anti-TWEAK.

O anticorpo pode ser efetivamente humano. Um anticorpo "efetivamente humano" é um anticorpo que inclui um número suficiente de posições de aminoácidos humanos, de tal modo que o anticorpo não provoque uma resposta imunogênica em um ser humano normal. De preferência, a
30 proteína não provoca uma resposta neutralizadora do anticorpo, por exemplo, a resposta de anticorpo antimurino humano (HAMA). HAMA pode ser problemático em inúmeras circunstâncias, por exemplo, se os anticorpos são

desejados para serem administrados repetidamente, por exemplo, no tratamento de uma condição de doença crônica ou recorrente. Uma resposta HAMA pode tornar a administração repetida do anticorpo potencialmente ineficaz por causa de uma depuração aumentada do anticorpo do soro (vide, 5 por exemplo, Saleh *et al.*, *Cancer Immunol. Immunother.* 32:180-190 (1990)), e também por causa de reações alérgicas potenciais (vide, por exemplo, Lo-Buglio *et al.*, *Hybridoma*, 5:5117-5123 (1986)).

Por exemplo, o anticorpo pode ser um anticorpo humano, humanizado, enxertado com CDR, quimérico, mutado, maturado por afinidade, 10 desimmunizado, sintético ou gerado *in vitro* de outra forma, e combinações deles. Em uma modalidade, o anticorpo anti-TWEAK é um anticorpo humanizado.

As cadeias pesada e leve do anticorpo anti-TWEAK podem ser substancialmente de comprimento inteiro. A proteína pode incluir pelo menos 15 uma, e de preferência duas cadeias pesadas completas, e pelo menos uma, e de preferência duas cadeias leves completas, ou pode incluir um fragmento ligante de antígeno (por exemplo, um fragment Fab, F(ab')₂, Fv ou um fragmento Fv de cadeia única). Em ainda outras modalidades, o anticorpo tem uma região constante com cadeia pesada escolhida entre, por exemplo, 20 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, e IgE; escolhida particularmente entre, por exemplo, IgG1, IgG2, IgG3, e IgG4, e mais particularmente, IgG1 (por exemplo, IgG1 humana). Tipicamente, a região constante com cadeia pesada é humana ou uma forma modificada de uma região constante humana. Em outra modalidade, o anticorpo tem uma região constante de 25 cadeia leve escolhida entre, por exemplo, kapa ou lambda, particularmente, kapa (por exemplo, kapa humana).

Em uma modalidade, a proteína inclui pelo menos uma, duas, e de preferência, três CDRs da região variável da cadeia leve ou pesada de um anticorpo aqui descrito, por exemplo, P2D10. Neste contexto, CDRs referem-se a CDRs como definidas por alças hipervariáveis de Chothia. Por 30 exemplo, a proteína inclui, na sequência do domínio variável da cadeia pesada, pelo menos uma, duas ou três das seguintes sequências dentro de uma

região CDR:

GFTFSRYAMS (CDR1) (SEQ ID NO: 1),

EISSGGSYPYYPDTVTG (CDR2) (SEQ ID NO: 2),

VLYYDYDGDRIEVM DY (CDR3) (SEQ ID NO: 3), ou uma CDR

- 5 que tem uma sequência de aminoácidos que difere em não mais do que 4, 3, 2,5, 2, 1,5, 1, ou 0,5 alterações (por exemplo, substituições, inserções ou deleções) para cada 10 aminoácidos (por exemplo, o número de diferenças sendo proporcional ao comprimento da CDR) em relação a uma sequência listada acima, por exemplo, pelo menos uma alteração, mas não mais do
- 10 que duas, três ou quatro por CDR. A sequência do domínio variável da cadeia pesada pode incluir essas sequências de CDRs, particularmente em CDR3, ou em pelo menos duas CDRs, por exemplo, CDR1 e CDR3, CDR2 e CDR3, ou em todas três CDRs.

- A proteína pode incluir, na sequência do domínio variável da cadeia pesada, pelo menos uma, duas ou três das seguintes sequências dentro de uma região CDR (os aminoácidos entre parênteses representam alternativas para a posição específica):

(i) G-(YF)-(NT)-F-(STDN)-(RY)-Y-A-(MIL)-(HS); (SEQ ID NO: 4),

ou

20 (ii) Y-Y-(PV)-D-(TS)-V-(TK)-G; (SEQ ID NO: 5) e

(iii) (VL)-(IL)-(YF)-(YF)-D-(YF)-D; (SEQ ID NO: 6) ou (DE)-(RK)-(ILVM)-(EQD)-(VAL)-M-(DE); (SEQ ID NO: 7).

- A proteína pode incluir, na sequência do domínio variável da cadeia leve, pelo menos uma, duas ou três das seguintes sequências dentro de uma região CDR:

RSSQSLVSSKGNTYLH; (CDR1) (SEQ ID NO: 8),

KVSNRFS; (CDR2) (SEQ ID NO: 9), e

- SQSTHFPR; (CDR3) (SEQ ID NO: 10), ou uma CDR que tem uma sequência de aminoácidos que difere em não mais do que 4, 3, 2,5, 2, 1,5, 1, ou 0,5 alterações (por exemplo, substituições, inserções ou deleções) para cada 10 aminoácidos (por exemplo, o número de diferenças sendo proporcional ao comprimento da CDR) em relação a uma sequência listada a-
- 30

cima, por exemplo, pelo menos uma alteração, mas não mais do que duas, três ou quatro por CDR. A sequência do domínio variável da cadeia leve pode incluir essas sequências de CDR particularmente em CDR3, ou em pelo menos duas CDRs, por exemplo, CDR1 e CDR3, CDR2 e CDR3, ou em todas três CDRs.

A proteína pode incluir, na sequência do domínio variável da cadeia leve, pelo menos uma, duas ou três das seguintes sequências dentro de uma região CDR (os aminoácidos entre parênteses representam alternativas para a posição específica):

- (i) (RK)-S-S-Q-S-(LI)-(KV)-S-S-(KR)-G-N-(TN)-Y-L-(EHDNQY); (SEQ ID NO: 11), ou (RK)-S-S-Q-S-(LI)-V-S-S-(KR)-G-N-(TN)-Y-L-H; (SEQ ID NO: 12)
- (ii) (KE)-(LVI)-S-(NYS)-(RW)-(FAD)-S; (SEQ ID NO: 13), ou K(LVI)-S-(NYS)-R-(FAD)-S; (SEQ ID NO: 14), e
- (iii) (SM)-Q-(GSA)-(ST)-(HEQ)-(FWL)-P; (SEQ ID NO: 15) ou S-Q-(GSA)-(SIT)-(HEQ)-F-P; (SEQ ID NO: 16).

Em uma modalidade preferida, a proteína inclui todas seis CDR's de P2D10 ou CDRs intimamente relacionadas, por exemplo, CDRs que são idênticas ou que têm pelo menos uma alteração de aminoácido, mas não mais do que duas, três ou quatro alterações (por exemplo, substituições, deleções, ou inserções), ou outra CDR aqui descrita.

Em ainda outro exemplo, a proteína inclui pelo menos uma, duas ou três regiões CDR que têm as mesmas estruturas canônicas e as regiões CDR Chothia correspondentes de P2D10, por exemplo, as mesmas estruturas canônicas que pelo menos CDR1 e/ou CDR2 dos domínios variáveis da cadeia pesada e/ou leve de P2D10.

A proteína pode incluir uma das seguintes sequências:

- DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLVSSKGNTYLHWYLQK
PGQSPQLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV
GVYYCSQSTHFPRT (SEQ ID NO: 17)
- DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLVSSKGNTYLHWYLQK
PGQSPQLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV

- GVYYCSQSTHFPRT (SEQ ID NO: 18)
- DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVSSKGNTYLHWFQQ
RPGQSPRRLIYKVS NRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCSQSTHFPRT (SEQ ID NO: 19)
 - 5 • DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVSSKGNTYLHWFQQ
RPGQSPRRLIYKVS NRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGYYCSQSTHFPRT (SEQ ID NO: 20)
 - DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVSSKGNTYLHWYLQK
PGQSPQLLIYKVS NRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV
10 GVYYCSQSTHFPRT (SEQ ID NO: 21)
 - DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVSSKGNTYLHWYLQK
PGQPPQLLIYKVS NRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV
GVYYCSQSTHFPRT (SEQ ID NO: 22)
 - DIVMTQSPLSLPVTGEPASISCRSSQSLVSSKGNTYLHWYLQK
15 PGQSPQLLIYKVS NRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV
GVYYCSQSTHFPRT (SEQ ID NO: 23)
 - DIVMTQSPLSLPVTGEPASISCRSSQSLVSSKGNTYLHWYLQK
PGQSPQLLIYKVS NRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV
GVYYCSQSTHFPRT (SEQ ID NO: 24)
 - 20 • DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVSSKGNTYLHWLQQR
PGQPPRLLIYKVS NRFS GVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDV
GVYYCSQSTHFPRT (SEQ ID NO: 25)
 - DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSSQSLVSSKGNTYLHWYQQ
KPGKAPKLLIYKVS NRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDF
25 ATYYCSQSTHFPRT (SEQ ID NO: 26)

ou uma sequência que tem menos do que oito, sete, seis, cinco, quatro, três ou duas alterações (por exemplo, substituições, inserções ou deleções, por exemplo, substituições conservativas ou uma substituição por um resíduo de aminoácido em uma posição correspondente em P2D10, huP2D10-L1, ou huP2D10-L2). As substituições exemplificativas são em uma das seguintes posições Kabat: 2, 4, 6, 35, 36, 38, 44, 47, 49, 62, 64-69, 85, 87, 98, 99, 101, e 102. As substituições podem, por exemplo, substituir um ou mais aminoá-

cidos de P2D10 em posições correspondentes em uma região do esqueleto, por exemplo, uma região humana do esqueleto, por exemplo, em FR2 (por exemplo, na posição 46 a Phe, de acordo com a numeração consecutiva) e em FR3 (por exemplo, na posição 87 a Phe).

5 A proteína pode incluir uma das seguintes sequências do domínio variável da cadeia pesada:

- QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSRYAMSWVRQAPG
QGLEWMGEISSGGSYPPYPDTVTGRVTMTRDTSISTAYMELSR
LRSDDTAVYYCARVLYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 27)
- 10 • QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSRYAMSWVRQAPG
QRLEWMGEISSGGSYPPYPDTVTGRVTITRDTASTAYMELSSL
RSED TAVYYCARVLYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 28)
- QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSRYAMSWVRQATG
QGLEWMGEISSGGSYPPYPDTVTGRVTMTRNTSISTAYMELSSL
15 RSED TAVYYCARVLYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 29)
- QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSRYAMSWVRQAPG
QGLEWMGEISSGGSYPPYPDTVTGRVTMTTDTSTAYMELRS
LRSDDTAVYYCARVLYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 30)
- QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFTFSRYAMSWVRQAPG
KGLEWMGEISSGGSYPPYPDTVTGRVTMTEDTSTD TAYMELSS
20 LRSED TAVYYCATVLYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 31)
- QMQLVQSGAEVKKTGSSVKVSCKASGFTFSRYAMSWVRQAPG
QALEWMGEISSGGSYPPYPDTVTGRVTITRDRSMSTAYMELSSL
RSED TAMYCARVLYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 32)
- 25 • QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSRYAMSWVRQAPG
QGLEWMGEISSGGSYPPYPDTVTGRVTMTRDTSTSTVYMELSS
LRSED TAVYYCARVLYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 33)
- QMQLVQSGPEVKKPGTSVKVSCKASGFTFSRYAMSWVRQARG
QRLEWIGEISSGGSYPPYPDTVTGRVTITRDMSTSTAYMELSSL
30 RSED TAVYYCAAVLYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 34)
- EVQLVESGGGLVQP GGSRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPG
KGLEWVAEISSGGSYPPYPDTVTGRFTISRDN AKNSLYLQMNSL

- RAEDTAVYYCARVLYYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 35)
- EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPG
KGLEWVSEISSGGSYPYPDTVTGRFTISRDNKNSLYLQMNSL
RAEDTALYYCAKDVLYYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 36)
 - 5 • QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWIRQAPGK
GLEWVSEISSGGSYPYPDTVTGRFTISRDNKNSLYLQMNSLR
AEDTAVYYCARVLYYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 37)
 - EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPG
KGLEWVGEISSGGSYPYPDTVTGRFTISRDDSKNTLYLQMNSL
10 KTEDTAVYYCTTVLYYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 38)
 - EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPG
KGLEWVSEISSGGSYPYPDTVTGRFTISRDNKNSLYLQMNSL
RAEDTALYHCAVLYYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 39)
 - EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPG
15 KGLEWVSEISSGGSYPYPDTVTGRFTISRDNKNSLYLQMNSL
RAEDTAVYYCARVLYYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 40)
 - EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPG
KGLEWVSEISSGGSYPYPDTVTGRFTISRDNKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCAKVLYYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 41)
 - QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPG
20 KGLEWVAEISSGGSYPYPDTVTGRFTISRDNKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCAKVLYYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 42)
 - QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPG
KGLEWVAEISSGGSYPYPDTVTGRFTISRDNKNTLYLQMNSL
25 RAEDTAVYYCARVLYYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 43)
 - QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPG
KGLEWVAEISSGGSYPYPDTVTGRFTISRDNKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCAKVLYYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 44)
 - QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPG
30 KGLEWVAEISSGGSYPYPDTVTGRFTISRDNKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCARVLYYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 45)
 - EVQLVESGGVVVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPG

KGLEWVSEISSGGSPYYPDTVTGRFTISRDNKNSLYLQMNSL
RTEDTALYYCAKDVLYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 46)

- EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPG
KGLEWVSEISSGGSPYYPDTVTGRFTISRDNKNSLYLQMNSL
RDEDTAVYYCARVLYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 47)

- EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCTASGFTFSRYAMSWFRQAPG
KGLEWVGEISSGGSPYYPDTVTGRFTISRDKSKSIAYLQMNSL
KTEDTAVYYCTRVLYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 48)

- EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPG
KGLEWVSEISSGGSPYYPDTVTGRFTISRDNKNTLYLQMNSL
RAEDMAVYYCARVLYDYDGDRIE (SEQ ID NO: 49)

ou uma sequência que tem menos do que oito, sete, seis, cinco quatro, três ou duas alterações (por exemplo, substituições, inserções ou deleções, por exemplo, substituições conservativas ou uma substituição por um resíduo de aminoácido em uma posição correspondente em P2D10). As substituições exemplificativas são em uma das seguintes posições Kabat: 2, 4, 6, 25, 36, 37, 39, 47, 48, 93, 94, 103, 104, 106, e 107. As substituições podem, por exemplo, substituir um ou mais aminoácidos de P2D10 em posições correspondentes em uma região do esqueleto, por exemplo, uma região humana do esqueleto.

Em uma modalidade, o esqueleto com cadeia pesada (por exemplo, FR1, FR2, FR3, individualmente, ou uma sequência que engloba FR1, FR2, e FR3, mas excluindo CDRs) inclui uma sequência de aminoácidos, que é pelo menos 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% ou mais, idêntica ao esqueleto da cadeia pesada de uma das sequências germinativas V: DP-25, DP-1, DP-12, DP-9, DP-7, DP-31, DP-32, DP-33, DP-58, DP-54, outra sequência germinativa do subgrupo VH I, outra sequência germinativa do subgrupo VH III, ou outro gene V que é compatível com a classe de estrutura canônica 1-3 (vide, por exemplo, Chothia *et al.*, *J. Mol. Biol.* 227:799-817 (1992); Tomlinson *et al.*, *J. Mol. Biol.* 227:776-798 (1992)). Outros esqueletos compatíveis com a classe de estrutura canônica 1-3 incluem esqueletos com um ou mais dos seguintes resíduos de acordo com a numeração

Kabat: Ala, Gly, Thr, or Val na posição 26; Gly na posição 26; Tyr, Phe, ou Gly na posição 27; Phe, Val, Ile, ou Leu na posição 29; Met, Ile, Leu, Val, Thr, Trp, ou Ile na posição 34; Arg, Thr, Ala, Lys na posição 94; Gly, Ser, Asn, ou Asp na posição 54; e Arg na posição 71.

- 5 Em uma modalidade, o esqueleto de cadeia leve (por exemplo, FR1, FR2, FR3, individualmente, ou uma sequência que engloba FR1, FR2, e FR3, mas que exclui CDRs) inclui uma sequência de aminoácidos, que é pelo menos 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% ou mais, idêntica ao esqueleto de cadeia leve de uma sequência germinativa do subgrupo V κ II ou
- 10 uma das seguintes sequências germinativas com segmentos V: A17, A1, A18, A2, A19/A3, A23, uma sequência germinativa do subgrupo V κ I (por exemplo, uma sequência de DPK9), ou outro gene V que é compatível com a classe de estrutura canônica 4-1 (vide, por exemplo, Tomlinson *et al.*, *EMBO J.* 14:4628 (1995)). Outros esqueletos compatíveis com a classe de es-
- 15 trutura canônica 4-1 incluem os esqueletos com um ou mais dos seguintes resíduos de acordo com a numeração Kabat: Val ou Leu ou Ile na posição 2; Ser ou Pro na posição 25; Ile ou Leu na posição 27b; Gly na posição 29; Phe ou Leu na posição 33; e Phe na posição 71. Além disso, de acordo com a numeração Kabat, a posição 48 pode ser Ile ou Val.
- 20 Em outra modalidade, o esqueleto de cadeia leve (por exemplo, FR1, FR2, FR3, individualmente, ou uma sequência que engloba FR1, FR2, e FR3, mas que exclui CDRs) inclui uma sequência de aminoácidos, que é pelo menos 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% ou mais, idêntica ao esqueleto de cadeia leve de uma sequência germinativa do subgrupo V κ I, por
- 25 exemplo, uma sequência de DPK9.

 Em uma modalidade, o esqueleto variável de cadeia leve ou pesada (por exemplo, a região que engloba pelo menos FR1, FR2, FR3, e opcionalmente FR4) pode ser escolhido entre: (a) um esqueleto variável de cadeia leve ou pesada que inclui pelo menos 80%, 90%, 95%, ou de preferência, 100% dos resíduos de aminoácidos de um esqueleto variável de ca-

30 deia leve ou pesada, por exemplo, um resíduo de esqueleto variável de cadeia leve ou pesada de um anticorpo humano maduro, uma sequência ger-

minativa humana, uma sequência de consenso humana, ou um anticorpo humano aqui descrito; (b) um esqueleto variável da cadeia pesada, que inclui entre 20% a 80%, 40% a 60%, 60% a 90%, ou 70% a 95% dos resíduos de aminoácidos de um esqueleto variável da cadeia leve ou pesada, por exemplo, um resíduo de esqueleto com cadeia leve ou pesada de um anticorpo humano maduro, uma sequência germinativa humana, uma sequência de consenso humana; (c) um esqueleto não-humano (por exemplo, um esqueleto de roedor); ou (d) um esqueleto não-humano que foi modificado, por exemplo, para remover determinantes antigênicos ou citotóxicos, por exemplo, desimunizado, ou parcialmente humanizado. Em uma modalidade, a sequência do domínio variável da cadeia pesada inclui resíduos humanos ou resíduos de sequências de consenso humanas em uma ou mais das seguintes posições (de preferência, pelo menos cinco, dez, doze, ou todas): (na FR do domínio variável da cadeia leve) 4L, 35L, 36L, 38L, 43L, 44L, 58L, 46L, 62L, 63L, 64L, 65L, 66L, 67L, 68L, 69L, 70L, 71L, 73L, 85L, 87L, 98L, e/ou (na FR do domínio variável da cadeia pesada) 2H, 4H, 24H, 36H, 37H, 39H, 43H, 45H, 49H, 58H, 60H, 67H, 68H, 69H, 70H, 73H, 74H, 75H, 78H, 91H, 92H, 93H, e/ou 103H (de acordo com a numeração Kabat).

Em uma modalidade, a proteína inclui pelo menos uma CDR não-humana, por exemplo, uma CDR murina, por exemplo, uma CDR de P2D10, ou uma mutante dela, e pelo menos um esqueleto que difere de um esqueleto de P2D10 em pelo menos um aminoácido, por exemplo, pelo menos 5, 8, 10, 12, 15, ou 18 aminoácidos. Por exemplo, as proteínas incluem uma, duas, três, quatro, cinco ou seis dessas CDR's não-humanas e inclui pelo menos uma diferença de aminoácido em pelo menos três entre HC FR1, HC FR2, HC FR3, LC FR1, LC FR2, e LC FR3.

Em uma modalidade, a sequência do domínio variável da cadeia pesada ou leve da proteína inclui uma sequência de aminoácidos, que é pelo menos 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% ou mais, idêntica a uma sequência do domínio variável de um anticorpo aqui descrito, por exemplo, P2D10, huP2D10-1, ou huP2D10-2; ou que difere em pelo menos 1 ou 5 resíduos, porém menos do que 40, 30, 20, ou 10 resíduos, de uma sequên-

cia do domínio variável de um anticorpo aqui descrito, por exemplo, P2D10, huP2D10-1, ou huP2D10-2.

Em uma modalidade, um ou dois dos domínios variáveis incluem posições de aminoácidos na região do esqueleto, que são derivadas variadamente de um anticorpo murino (por exemplo, P2D10) e de um anticorpo humanizado (por exemplo, 56-84m e K107) ou sequência germinativa. Por exemplo, o domínio variável deve incluir inúmeras posições nas quais o aminoácido é idêntico ao anticorpo murino e também ao anticorpo humano (ou sequência germinativa) porque os dois são idênticos nessa posição. Dentre as posições remanescentes do esqueleto, nas quais o murino e o humano diferem, pelo menos 50, 60, 70, 80, ou 90% das posições do domínio variável são de preferência idênticas ao anticorpo humano (ou sequência germinativa) ao invés do murino. Nenhuma, ou pelo menos uma, duas, três ou quatro dessas posições remanescentes do esqueleto podem ser idênticas ao anticorpo murino ao invés do anticorpo humano. Por exemplo, em HC FR1, uma ou duas dessas posições podem ser murinas; em HC FR2, uma ou duas dessas posições podem ser murinas; em FR3, uma, duas, três ou quatro dessas posições podem ser murinas; em LC FR1, uma, duas três ou quatro dessas posições podem ser murinas; em LC FR2, uma ou duas dessas posições podem ser murinas; em LC FR3, uma ou duas dessas posições podem ser murinas.

Em uma modalidade, a sequência do domínio variável da cadeia pesada ou leve da proteína inclui uma sequência de aminoácidos codificada por uma sequência de ácidos nucleicos aqui descrita ou um ácido nucleico que hibridiza para uma sequência de ácidos nucleicos aqui descrita (por exemplo, uma sequência de ácidos nucleicos específica ou uma sequência de ácidos nucleicos que codifica uma sequência de aminoácidos aqui descrita) ou seu complemento, por exemplo, sob condições de baixa severidade, média severidade, alta severidade ou severidade muito alta.

O anticorpo anti-TWEAK pode ser transformado ou ligado a outra molécula funcional, por exemplo, outro peptídeo, proteína, ou composto. Por exemplo, o anticorpo pode ser ligado funcionalmente (por exemplo, por

acoplamento químico, fusão genética, associação não-covalente, ou de outra forma) a uma ou mais outras entidades moleculares, tal como um outro anticorpo (por exemplo, um anticorpo biespecífico ou multiespecífico), toxinas, radioisótopos, polímeros, agentes citotóxicos ou citostáticos, dentre outros.

Em outro aspecto, a invenção fornece composições, por exemplo, composições farmacêuticas, que incluem um veículo farmaceuticamente aceitável e um anticorpo anti-TWEAK, por exemplo, um anticorpo anti-Tweak aqui descrito.

Em ainda outra modalidade, o anticorpo anti-TWEAK (por exemplo, uma sua composição farmacêutica) é administrado a um indivíduo que necessita de terapia com anticorpo anti-TWEAK ou cuja condição seria melhorada pelo anticorpo. Por exemplo, o anticorpo anti-TWEAK pode ser administrado a um indivíduo que tem ou está em risco de adquirir um distúrbio inflamatório, distúrbio imunológico, distúrbio auto-imune, distúrbio neuronal, um distúrbio neoplástico, ou outro distúrbio aqui descrito. Em uma modalidade, um anticorpo anti-TWEAK aqui descrito é usado para a preparação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio inflamatório, distúrbio imunológico, distúrbio auto-imune, distúrbio neuronal, um distúrbio neoplástico, ou outro distúrbio aqui descrito.

Em outro aspecto, a invenção refere-se a um método para tratar um distúrbio associado a TWEAK, em um indivíduo. O método inclui: administrar ao indivíduo um anticorpo anti-TWEAK, em uma quantidade suficiente para tratar (por exemplo, melhorar ou prevenir) o distúrbio associado a TWEAK. O anticorpo anti-TWEAK pode ser administrado ao indivíduo, isoladamente ou em combinação com outras modalidades terapêuticas como aqui descritas. Em uma modalidade, o indivíduo é um mamífero, por exemplo, um ser humano, por exemplo, um ser humano que tem um distúrbio associado a TWEAK, por exemplo, um distúrbio aqui descrito. O anticorpo pode ser usado para melhorar um ou mais sintomas desses distúrbios. O termo "tratar" refere-se a administrar uma terapia em uma quantidade, maneira e/ou modo eficaz para melhorar ou prevenir uma condição, sintoma, ou pa-

râmetro associado a um distúrbio (por exemplo, um distúrbio aqui descrito) ou para prevenir o início, a progressão ou a exacerbação do distúrbio até um grau estatisticamente significativo ou até um grau detectável para os versados nessas técnicas. Consequentemente, o tratamento pode proporcionar 5 benefícios terapêuticos e/ou profiláticos. Uma quantidade eficaz, uma maneira eficaz ou um modo eficaz pode variar dependendo do indivíduo e pode ser individualizado. Em uma modalidade, um anticorpo anti-TWEAK aqui descrito é usado para a preparação de um medicamento para o tratamento de um distúrbio associado a TWEAK.

10 Em outro aspecto, a invenção fornece um método para modular a interação entre TWEAK e uma proteína receptora de TWEAK. Por exemplo, um anticorpo anti-TWEAK pode ser usado para reduzir ou inibir a ligação between TWEAK e um receptor de TWEAK, tal como Fn14. O método compreende colocar TWEAK ou um complexo que contém TWEAK em con- 15 tato com o anticorpo. O método pode ser usado em células *in vitro*, por exemplo, em cultura, por exemplo *in vitro* ou *ex vivo*. Por exemplo, as células que expressam o receptor de TWEAK podem ser cultivadas *in vitro* em meio de cultura, e a etapa de colocação em contato pode ser efetuada adicionando um anticorpo anti-TWEAK ao meio de cultura. Alternativamente, o método 20 pode ser realizado em células presentes em um indivíduo, por exemplo, como parte de um protocolo *in vivo* (por exemplo, terapêutico ou profilático). Por exemplo, o anticorpo anti-TWEAK pode ser distribuído localmente ou por via sistêmica. Em uma modalidade, um anticorpo anti-TWEAK aqui descrito é usado para a preparação de um medicamento para modular a interação 25 entre TWEAK e uma proteína receptora de TWEAK.

O método pode incluir colocar TWEAK em contato com o complexo receptor de TWEAK, ou uma subunidade dele, sob condições que permitem que uma interação entre TWEAK e o complex receptor de TWEAK, ou subunidade dele, ocorra, para desta forma formar uma mistura de TWE- 30 AK/receptor de TWEAK. Geralmente, o anticorpo anti-TWEAK é fornecido em uma quantidade eficaz, por exemplo, de tal modo que o contato da mistura de TWEAK/receptor de TWEAK com o anticorpo anti-TWEAK module,

por exemplo, interfira com (por exemplo, iniba, bloqueie ou reduza de outra forma) a interação entre TWEAK e a proteína receptora ou pelo menos interfira com uma função de TWEAK, por exemplo, a sinalização mediada por TWEAK.

5 A invenção fornece também ácidos nucleicos que compreendem sequências de nucleotídeos, que codificam regiões variáveis de cadeia pesada e leve dos anticorpos anti-TWEAK, por exemplo, como aqui descritos. Por exemplo, a invenção fornece uma primeira e uma segunda regiões variáveis com cadeia pesada e leve que codificam ácidos nucleicos, respectivamente, de P2D10. Em outro aspecto, a invenção fornece células hospedeiras e vetores que contêm os ácidos nucleicos aqui descritos.

 A invenção fornece também o epítipo de TWEAK, por exemplo, TWEAK humano, reconhecido por P2D10, e proteínas capazes de interagir com o epítipo. Por exemplo, as proteínas e peptídeos que incluem o epítipo
15 podem ser usados para gerar ou triar outros compostos ligantes que interagem com o epítipo, por exemplo, proteínas tais como anticorpos ou moléculas pequenas. Por exemplo, um peptídeo que inclui o epítipo pode ser usado como um imunógeno ou como um alvo para triar uma biblioteca de expressão. É também possível avaliar compostos quanto à sua capacidade de
20 interagir com o peptídeo, ou, por mapeamento ou determinação da estrutura, avaliar compostos quanto à sua capacidade de interagir com o epítipo, por exemplo, no contexto de um TWEAK maduro. Uma avaliação exemplificativa inclui determinar se o composto consegue interagir com TWEAK na presença de um anticorpo P2D10 competitivo.

25 Os métodos para distribuir ou visar um agente, por exemplo, um agente terapêutico (incluindo um agente genético) ou um agente citotóxico, com um anticorpo anti-TWEAK (por exemplo, P2D10 ou outro anticorpo aqui descrito) para uma célula ou estrutura que expressa TWEAK *in vivo*, também são descritos.

30 Como aqui utilizado, o termo "anticorpo" refere-se a uma proteína que inclui pelo menos uma região variável de imunoglobulina, por exemplo, uma sequência de aminoácidos que fornece um domínio variável de i-

munoglobulina ou uma sequência do domínio variável de imunoglobulina. Por exemplo, um anticorpo pode incluir uma região variável da cadeia pesada (H) (aqui abreviada como VH), e uma região variável da cadeia leve (L) (aqui abreviada como VL). Em outro exemplo, um anticorpo inclui duas regiões variáveis com cadeia pesada (H) e duas regiões variáveis com cadeia leve (L). O termo "anticorpo" engloba fragmentos ligantes de antígenos de anticorpos (por exemplo, anticorpos com cadeia única, fragmentos Fab, fragmentos $F(ab')_2$, fragmentos Fd, fragmentos Fv, e fragmentos dAb), bem como anticorpos de comprimento inteiro, por exemplo, imunoglobulinas de comprimento inteiro dos tipos IgA, IgG (por exemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgE, IgD, IgM (bem como seus subtipos). O termo "anticorpo de comprimento inteiro" refere-se a um anticorpo que tem pelo menos 96% do comprimento de um anticorpo natural que é processado para remover quaisquer sequências de sinais. Um anticorpo de comprimento inteiro pode incluir o comprimento completo do anticorpo natural, por exemplo, resíduos a partir do resíduo do terminal amino de um anticorpo natural (por exemplo, a IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) até seu resíduo do terminal carboxila.

Uma "sequência do domínio variável de imunoglobulina" refere-se a uma sequência de aminoácidos que pode formar a estrutura de um domínio variável de imunoglobulina. Por exemplo, a sequência pode incluir a totalidade ou parte da sequência de aminoácidos de um domínio variável de ocorrência natural. Por exemplo, a sequência pode ou não incluir um, dois ou mais aminoácidos do terminal N ou C, ou pode incluir outras alterações que são compatíveis com a formação da estrutura da proteína.

Uma "composição isolada" refere-se a uma composição da qual se removeu pelo menos 90% de pelo menos um componente de uma amostra natural a partir da qual a composição isolada pode ser obtida. As composições produzidas artificialmente ou naturalmente podem ser "composições com pelo menos" um certo grau de pureza se a espécie ou população da espécie de interesse é pelo menos 5, 10, 25, 50, 75, 80, 90, 95, 98, ou 99% pura em base ponderal.

Um "epitopo" refere-se ao sítio em um composto-alvo que está

ligado por um anticorpo. No caso em que o composto-alvo é uma proteína, por exemplo, um epítipo pode se referir aos aminoácidos (particularmente cadeias laterais de aminoácidos) que são ligados pelo anticorpo. Epítipos sobrepostos incluem pelo menos um resíduo de aminoácido comum, por exemplo, em pelo menos 2, 3, 4 ou 5 resíduos de aminoácidos comuns.

Como aqui utilizado, o termo "hibridiza sob condições de baixa severidade, média severidade, alta severidade, ou severidade muito alta" descreve as condições para hibridização e lavagem. As orientações para realizar reações de hibridização podem ser encontradas em "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Nesta publicação referida estão descritos métodos aquosos e não-aquosos e qualquer um deles pode ser usado. As condições específicas de hibridização aqui referidas são as seguintes: (1) condições de hibridização de baixa severidade em 6X cloreto de sódio/citrato de sódio (SSC) a cerca de 45°C, e em seguida, duas lavagens em 0,2X SSC, 0,1% de SDS a pelo menos 50°C (a temperatura das lavagens pode ser aumentada para 55°C para condições de baixa severidade); (2) condições de hibridização de severidade média em 6X SSC a cerca de 45°C, e em seguida, uma ou mais lavagens em 0,2X SSC, 0,1% de SDS a 60°C; (3) condições de hibridização de alta severidade em 6X SSC a cerca de 45°C, e em seguida, uma ou mais lavagens em 0,2X SSC, 0,1% de SDS a 65°C; e de preferência, (4) condições de hibridização de severidade muito alta são fosfato de sódio 0,5 M, 7% de SDS a 65°C, e em seguida, uma ou mais lavagens em 0,2X SSC, 1% de SDS a 65°C. As condições de alta severidade (3) são as condições preferidas e as que devem ser usadas, a menos que diferentemente especificado.

Um "distúrbio associado a TWEAK" é qualquer distúrbio no qual TWEAK contribui para a etiologia ou um distúrbio cuja condição, sintomas, ou risco de início são alterados pelo fornecimento de um agente bloqueador de TWEAK.

A menos que diferentemente definido, todos os termos técnicos e científicos aqui utilizados têm o mesmo significado que aquele entendido comumente pelos versados nessas técnicas às quais esta invenção pertenc-

ce. Embora métodos e materiais similares ou equivalentes àqueles aqui descritos possam ser usados na prática ou nos testes aqui descritos, os métodos e materiais apropriados estão descritos abaixo. Além disso, as modalidades da invenção descritas com relação a CDRs Chothia podem ser implementadas também usando CDRs Kabat.

Todas publicações, pedidos de patente, patentes, e outras referências aqui mencionadas são incorporadas como referência em sua totalidade. No caso de conflito, o presente relatório descritivo, incluindo as definições, prevalecerá. Além disso, os materiais, métodos, e exemplos são ilustrativos e não pretendem ser limitativos.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

P2D10 é um anticorpo murino exemplificativo que se liga especificamente a TWEAK humano e inibe a função de TWEAK. Variantes do anticorpo P2D10 também estão descritas, incluindo variantes humanizadas e exemplificativas. Estes anticorpos, outros anticorpos anti-TWEAK, e outros agentes bloqueadores de TWEAK podem ser usados para tratar ou prevenir distúrbios mediados por TWEAK, por exemplo, distúrbios inflamatórios e outros distúrbios aqui descritos.

Anticorpos Anti-TWEAK

Esta invenção inclui as sequências de exemplos específicos de anticorpos anti-TWEAK, tais como P2D10, huP2D10-1, e huP2D10-2. Os anticorpos específicos, tais com estes, podem ser fabricados, por exemplo, preparando e expressando genes sintéticos que codificam as sequências de aminoácidos enunciadas ou mutando genes germinativos humanos, para produzir um gene que codifica as sequências de aminoácidos enunciadas. Além disso, estes anticorpos e outros anticorpos anti-TWEAK podem ser produzidos, por exemplo, usando um ou mais dos métodos que se seguem.

Inúmeros métodos estão disponíveis para obter anticorpos, particularmente anticorpos humanos. Um método exemplificativo inclui triar bibliotecas de expressão de proteínas, por exemplo, bibliotecas de apresentação em fagos ou ribossomas. A apresentação de fagos está descrita, por exemplo, na patente nº US 5.223.409; Smith (1985) *Science* 228:1315-1317;

documentos nºs WO 92/18619; WO 91/17271; WO 92/20791; WO 92/15679; WO 93/01288; WO 92/01047; WO 92/09690; e WO 90/02809. A apresentação de Fab's em fagos está descrita, por exemplo, nas patentes nºs US 5.658.727; 5.667.988; e 5.885.793.

5 Além do uso de bibliotecas de apresentação, outros métodos podem ser usados para obter um anticorpo ligante de TWEAK. Por exemplo, a proteína TWEAK ou um peptídeo dela pode ser usada como um antígeno em um animal não-humano, por exemplo, um roedor, por exemplo, um camundongo, *hamster*, ou rato.

10 Em uma modalidade, o animal não-humano inclui pelo menos uma parte de um gene de imunoglobulina humano. Por exemplo, é possível manipular cepas de camundongo deficientes na produção de anticorpos murinos com fragmentos grandes dos *loci* de Ig humanos. Usando a tecnologia de hibridomas, podem ser produzidos e selecionados anticorpos monoclonais
15 nais específicos de antígenos, derivados dos genes com a especificidade desejada. Vide, por exemplo, XENOMOUSE®, Green *et al.* (1994) *Nature Genetics* 7:13-21; US 2003-0070185, WO 96/34096, e WO 96/33735.

Em outra modalidade, um anticorpo monoclonal é obtido a partir do animal não-humano, e depois modificado, por exemplo, humanizado ou
20 desimmunizado. Winter descreve um método exemplificativo para enxertar CDRs, que pode ser usado para preparar os anticorpos humanizados aqui descritos (patente nº US 5.225.539). A totalidade ou parte das CDRs de um anticorpo humano específico pode ser substituída por pelo menos uma parte de um anticorpo não-humano. Pode ser necessário apenas substituir as
25 CDRs necessárias para a ligação ou determinantes da ligação dessas CDRs, para chegar a um anticorpo humanizado útil que se liga a TWEAK.

Os anticorpos humanizados podem ser gerados substituindo sequências da região variável Fv, que não estão envolvidas diretamente na
ligação de antígenos por sequências equivalentes de regiões variáveis Fv
30 humanas. Os métodos genéricos para gerar anticorpos humanizados são fornecidos por Morrison, S. L. (1985) *Science* 229:1202-1207; por Oi *et al.* (1986) *BioTechniques* 4:214; e por US 5.585.089; US 5.693.761; US

5.693.762; US 5.859.205; e US 6.407.213. Estes métodos incluem isolar, manipular, e expressar as sequências de ácidos nucleicos que codificam a totalidade ou parte das regiões variáveis Fv de imunoglobulina a partir de pelo menos uma cadeia pesada ou leve. As fontes desse ácido nucleico são bem-conhecidas pelos versados nessas técnicas e, por exemplo, podem ser obtidas a partir de hibridoma que produz um anticorpo contra um alvo predefinido, como descrito acima, a partir de genes de imunoglobulina germinativos, ou a partir de construções sintéticas. O DNA recombinante que codifica o anticorpo humanizado pode ser então clonado em um vetor de expressão apropriado.

As sequências germinativas humanas estão descritas, por exemplo, em Tomlinson, I.A. *et al.* (1992) *J. Mol. Biol.* 227:776-798; Cook, G. P. *et al.* (1995) *Immunol. Today* 16: 237-242; Chothia, D. *et al.* (1992) *J. Mol. Bio.* 227:799-817; e Tomlinson *et al.* (1995) *EMBO J* 14:4628-4638. O guia "V BASE" fornece orientações abrangentes sobre sequências da região variável de imunoglobulina humana (compiladas por Tomlinson, I.A. *et al.* MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, Reino Unido). Estas sequências podem ser usadas como uma fonte de sequência humana, por exemplo, para regiões do esqueleto e CDRs. As regiões humanas de consenso do esqueleto podem ser usadas também, por exemplo, como descrito na patente nº US 6.300.064.

Um anticorpo ligante de TWEAK não-humano pode ser também modificado por deleção específica de epítopos de células T humanas ou "desimunização" pelos métodos descritos em WO 98/52976 e WO 00/34317. Resumidamente, podem ser analisadas as regiões variáveis com cadeia pesada e leve de um anticorpo, que se ligam a MHC Classe II; estes peptídeos representam epítopos de células T potenciais (como definido em WO 98/52976 e WO 00/34317). Para a detecção de epítopos de células T potenciais, uma abordagem de modelagem computadorizada denominada "filamentação de peptídeos" pode ser aplicada, e além disso, uma base de dados de peptídeos MHC ligantes humanos pode ser buscada para achar modelos presentes nas sequências V_H e V_L, como descrito em WO 98/52976 e

WO 00/34317. Estes modelos se ligam a qualquer um dos 18 alotipos principais de MHC classe II DR, e assim sendo, constituem epitopos de células T potenciais. Os epitopos de células T potenciais detectados podem ser eliminados substituindo pequenos números de resíduos de aminoácidos nas regiões variáveis, ou de preferência, por substituições de um único aminoácido. Tanto quanto possível, são feitas substituições conservativas. Frequentemente, porém não exclusivamente, um aminoácido comum a uma posição em sequências germinativas do anticorpo humano pode ser usado. Depois que as mudanças desimunizadoras são identificadas, os ácidos nucleicos que codificam V_H e V_L podem ser construídos por mutagênese ou outros métodos sintéticos (por exemplo, síntese *de novo*, substituição de fita, e assim por diante). Uma sequência variável mutagenizada pode ser, opcionalmente, fundida a uma região constante humana, por exemplo, as regiões constantes de IgG1 ou kapa humanas.

Em alguns casos, um epitopo de células T potencial deve incluir resíduos bem-conhecidos ou previstos como sendo importantes para a função do anticorpo. Por exemplo, os epitopos de células T potenciais são usualmente desviados na direção das CDRs. Além disso, os epitopos de células T potenciais podem ocorrer em resíduos do esqueleto importantes para a estrutura e ligação do anticorpo. As mudanças para eliminar estes epitopos potenciais, em alguns casos, exigirão mais apuramento, por exemplo, produzindo e testando cadeias com e sem a mudança. Quando possível, os epitopos de células T potenciais que se sobrepõem às CDRs podem ser eliminados por substituições fora das CDRs. Em alguns casos, uma alteração dentro de uma CDR é a única opção, e assim sendo, as variantes com e sem esta substituição podem ser testadas. Em outros casos, a substituição necessária para remover um epitopo de células T potencial é em uma posição do resíduo dentro do esqueleto, que poderia ser crítica para a ligação do anticorpo. Nestes casos, as variantes com e sem esta substituição são testadas. Assim sendo, em alguns casos, várias regiões variáveis com cadeia pesada e leve da variante desimmunizada são desenhadas e várias combinações de cadeia pesada/leve são testadas para identificar o anticorpo desi-

munizado ideal. A escolha do anticorpo desimmunizado final pode ser então feita considerando a afinidade de ligação das diferentes variantes em conjunto com a extensão da desimmunização, particularmente o número de epítopos de células T potenciais remanescentes na região variável. A desimmunização pode ser usada para modificar qualquer anticorpo, por exemplo, um anticorpo que inclui uma sequência não-humana, por exemplo, um anticorpo sintético, um anticorpo murino que não um anticorpo monoclonal não-humano, ou um anticorpo isolado a partir de uma biblioteca de apresentação.

Outros métodos para humanizar anticorpos também podem ser usados. Por exemplo, outros métodos podem ser responsáveis pela estrutura tridimensional do anticorpo, posições no esqueleto que estão na proximidade tridimensional de determinantes de ligação, e sequências peptídicas imunogênicas. Vide, por exemplo, WO 90/07861; patentes n^{os} US 5.693.762; 5.693.761; 5.585.089; 5.530.101; e 6.407.213; Tempest *et al.* (1991) *Biotechnology* 9:266-271. Ainda outro método é denominado "engenharia de humanização" e está descrito, por exemplo, em US 2005-008625.

O anticorpo pode incluir uma região Fc humana, por exemplo, uma região Fc do tipo selvagem ou uma região Fc que inclui uma ou mais alterações. Em uma modalidade, a região constante é alterada, por exemplo, mutada, para modificar as propriedades do anticorpo (por exemplo, para aumentar ou diminuir uma ou mais entre: ligação do receptor de Fc, glicosilação do anticorpo, o número de resíduos de cisteína, função de células efetoras, ou função de complementos). Por exemplo, a região constante humana de IgG1 pode ser mutada em um ou mais resíduos, por exemplo, um ou mais dos resíduos 234 e 237. Os anticorpos podem ter mutações na região CH2 da cadeia pesada que reduzem ou alteram a função efetora, por exemplo, a ligação do receptor de Fc e a ativação de complementos. Por exemplo, os anticorpos podem ter mutações tais como aquelas descritas nas patentes n^{os} US 5.624.821 e 5.648.260. Os anticorpos podem ter também mutações que estabilizam a ligação dissulfeto entre as duas cadeias pesadas de uma imunoglobulina, tais como mutações na região de articulação de IgG4, como decrito nessas técnicas (por exemplo, Angal *et al.* (1993) *Mol.*

Immunol. 30:105-08). Vide também, por exemplo, US 2005-0037000.

Maturação da Afinidade

Em uma modalidade, um anticorpo anti-TWEAK é modificado, por exemplo, por mutagênese, para fornecer uma coleção de anticorpos modificados. Os anticorpos modificados são então avaliados para identificar um ou mais anticorpos que têm propriedades funcionais alteradas (por exemplo, melhor ligação, melhor estabilidade, antigenicidade reduzida, ou maior estabilidade *in vivo*). Em uma implementação, usa-se a tecnologia de biblioteca de apresentação para selecionar ou triar a coleção de anticorpos modificados. Anticorpos com afinidade mais alta são então identificados a partir da segunda biblioteca, por exemplo, usando severidade mais alta ou condições de ligação e lavagem mais competitivas. Outras técnicas de triagem também podem ser usadas.

Em algumas implementações, a mutagênese é visada para regiões conhecidas ou que possivelmente estão na interface da ligação. Caso, por exemplo, as proteínas ligantes identificadas sejam anticorpos, então a mutagênese pode ser direcionada para as regiões CDR das cadeias pesadas ou leves, como aqui descrito. Além disso, a mutagênese pode ser direcionada para regiões do esqueleto perto ou adjacentes às CDRs, por exemplo, regiões do esqueleto, particularmente dentro de 10, 5, ou 3 aminoácidos de uma junção de CDRs. No caso de anticorpos, a mutagênese pode ser também limitada a uma ou algumas das CDRs, por exemplo, para efetuar melhoras escalonadas.

Em uma modalidade, a mutagênese é usada para tornar um anticorpo mais similar a uma ou mais sequências germinativas. Um método germinativo exemplificativo pode incluir: identificar uma ou mais sequências germinativas que são similares (por exemplo, mais similares em uma base de dados específica) à sequência do anticorpo isolado. Depois, as mutações (no nível de aminoácidos) podem ser feitas no anticorpo isolado, seja incrementalmente, em combinação, ou ambos. Por exemplo, produz-se uma biblioteca de ácidos nucléicos que inclui sequências que codificam algumas ou todas mutações germinativas possíveis. Os anticorpos mutados são então

avaliados, por exemplo, para identificar um anticorpo que tem um ou mais resíduos germinativos adicionais em relação ao anticorpo isolado e que ainda é útil (por exemplo, tem uma atividade funcional). Em uma modalidade, são introduzidos resíduos germinativos em um anticorpo isolado em número tão grande quanto possível.

Em uma modalidade, a mutagênese é usada para substituir ou inserir um ou mais resíduos germinativos em uma região CDR. Por exemplo, o resíduo de CDR germinativo pode ser de uma sequência germinativa que é similar (por exemplo, mais similar) à região variável que está sendo modificada. Depois da mutagênese, a atividade (por exemplo, a atividade de ligação ou outra atividade funcional) do anticorpo pode ser avaliada para determinar se o resíduo ou resíduos germinativos são tolerados. Uma mutagênese similar pode ser realizada nas regiões do esqueleto.

A seleção de uma sequência germinativa pode ser realizada de diferentes maneiras. Por exemplo, uma sequência germinativa pode ser selecionada se ela atende a critérios predeterminados quanto à seletividade ou similaridade, por exemplo, em pelo menos uma certa identidade percentual, por exemplo, pelo menos 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, ou 99,5% e identidade em relação ao anticorpo não-humano doador. A seleção pode ser realizada usando pelo menos 2, 3, 5, ou 10 sequências germinativas. No caso de CDR1 e CDR2, identificar uma sequência germinativa pode incluir selecionar essa sequência. No caso de CDR3, identificar uma sequência germinativa similar pode incluir selecionar essa sequência, mas pode incluir usar duas sequências germinativas que separadamente contribuem para a parte do terminal amino e da parte do terminal carboxila. Em outras implementações, são usadas mais do que uma ou duas sequências germinativas, por exemplo, para formar uma sequência de consenso.

Em outras modalidades, o anticorpo pode ser modificado para ter um padrão de glicosilação alterado (isto é, alterado em relação ao padrão de glicosilação original ou nativo). Como utilizado neste contexto, o termo "alterado" significa ter um ou mais grupamentos carboidrato deletados, e/ou ter um ou mais sítios de glicosilação adicionados ao anticorpo original. A a-

dição de sítios de glicosilação aos anticorpos presentemente descritos pode ser realizada alterando a sequência de aminoácidos para conter sequências de consenso com sítios de glicosilação; tais técnicas são bem-conhecidas nessa técnica. Outro meio para aumentar o número de grupamentos carboidrato em anticorpos é por acoplamento químico ou enzimático de glicosídeos aos resíduos de aminoácidos do anticorpo. Estes métodos estão descritos, por exemplo, em WO 87/05330; e Aplin e Wriston (1981) *CRC Crit. Rev. Biochem.* 22:259-306. A remoção de quaisquer grupamentos carboidrato presentes nos anticorpos pode ser realizada quimicamente ou enzimaticamente, como descrito nessas técnicas (Hakimuddin *et al.* (1987) *Arch. Biochem. Biophys.* 259:52; Edge *et al.* (1981) *Anal. Biochem.* 118:131; e Thotakura *et al.* (1987) *Meth. Enzymol.* 138:350). Vide, por exemplo, patente nº US 5.869.046 para obter uma modificação que aumenta a meia-vida *in vivo* disponibilizando um epítipo ligante de receptor de recuperação.

Em uma modalidade, um anticorpo tem sequências de CDR que diferem apenas insubstancialmente daquelas de P2D10. As diferenças insubstanciais incluem pequenas mudanças de aminoácidos, tais como substituições de 1 ou 2 dentre qualquer um entre tipicamente 5-7 aminoácidos na sequência de uma CDR, por exemplo, uma CDR Chothia ou Kabat. Tipicamente, um aminoácido é substituído por um aminoácido afim que tem características de carga, hidrofóbicas ou estereoquímicas similares. Tais substituições seriam do conhecimento dos versados nessas técnicas. Diferentemente das CDRs, mudanças mais substanciais em regiões do esqueleto da estrutura (FRs) podem ser feitas sem afetar adversamente as propriedades de ligação de um anticorpo. As mudanças em FRs incluem, porém sem imitações, humanizar um esqueleto estrutural derivado de não-humano ou manipular certos resíduos do esqueleto que são importantes para contato com antígenos ou para estabilizar o sítio de ligação, por exemplo, mudando a classe ou subclasse da região constante, mudar resíduos de aminoácidos específicos que poderiam alterar uma função efetora, tal como a ligação do receptor de Fc (Lund *et al.* (1991) *J. Immun.* 147:2657-62; Morgan *et al.* (1995) *Immunology* 86:319-24), ou mudar a espécie da qual a região cons-

tante é derivada.

Os anticorpos anti-TWEAK podem estar na forma de anticorpos de comprimento inteiro, ou na forma de fragmentos de anticorpos, por exemplo, os fragmentos Fab, F(ab')₂, Fd, dAb, e scFv. As formas adicionais
 5 incluem uma proteína que inclui um único domínio variável, por exemplo, um domínio de camelo ou camelizado. Vide, por exemplo, US 2005-0079574 e Davies *et al.* (1996) *Protein Eng.* 9(6):531-7.

Produção de Anticorpos

Alguns anticorpos, por exemplo, Fab's, podem ser produzidos
 10 em células bacterianas, por exemplo, células de *E. coli*. Os anticorpos podem ser produzidos também em células eucarióticas. Em uma modalidade, os anticorpos (por exemplo, scFv's) são expressados em célula de levedura, tal como *Pichia* (vide, por exemplo, Powers *et al.* (2001) *J Immunol Methods.* 251:123-35), *Hansenula*, or *Saccharomyces*.

15 Uma modalidade preferida, anticorpos são produzidos em células de mamíferos. As células hospedeiras de mamíferos exemplificativas para expressar um anticorpo incluem células do ovário do hamster chinês (células CHO) (incluindo células CHO *dhfr*⁻, descritas em Urlaub e Chasin (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220, usadas com um marcador
 20 DHFR selecionável por exemplo, como descrito em Kaufman e Sharp (1982) *Mol. Biol.* 159:601-621), linhagens de células linfocíticas, por exemplo, células de mieloma NS0 e células SP2, células COS, e uma célula de um animal transgênico, por exemplo, um mamífero transgênico. Por exemplo, a célula é uma célula epitelial de mamífero.

25 Além da sequência de ácidos nucleicos que codifica o domínio de imunoglobulina diversificado, os vetores de expressão recombinante podem portar sequências adicionais, tais como sequências que regulam a replicação do vetor em células hospedeiras (por exemplo, origens de replicação) e genes marcadores selecionáveis. O gene marcador selecionável
 30 facilita a seleção de células hospedeiras dentro das quais o vetor foi introduzido (vide, por exemplo, patentes n^{os} US 4.399.216, 4.634.665 e 5.179.017). Por exemplo, tipicamente, o gene marcador selecionável confere resistência a

fármacos, tais como G418, higromicina, ou metotrexato, em uma célula hospedeira dentro da qual o vetor foi introduzido.

Em um sistema exemplificativo para a expressão de anticorpos, um vetor de expressão recombinante que codifica a cadeia pesada do anticorpo e também a cadeia leve do anticorpo é introduzido dentro de células CHO *dhfr⁻* por transfecção mediada com fosfato. Dentro do vetor de expressão recombinante, os genes das cadeias pesadas e leves do anticorpo estão, cada uma, ligadas operacionalmente a elementos reguladores intensificadores/promotores (por exemplo, derivados de SV40, CMV, adenovírus e similares, tal como o elemento regulador intensificador de CMV/promoter de AdMLP ou um elemento intensificador de SV40/promoter de AdMLP) para acionar altos níveis de transcrição dos genes. O vetor de expressão recombinante porta também um gene de DHFR, que permite a seleção de células CHO que foram transfectadas com o vetor usando seleção/ampliação com metotrexato. As células hospedeiras transformantes selecionadas são cultivadas para permitir a expressão das cadeias pesada e leve do anticorpo, e o anticorpo é recuperado do meio de cultura. Técnicas de biologia molecular usuais são usadas para preparar o vetor de expressão recombinante, transfectar as células hospedeiras, selecionar os transformantes, cultivar as células e recuperar o anticorpo do meio de cultura. Por exemplo, alguns anticorpos podem ser isolados por cromatografia de afinidade com uma matriz acoplada à Proteína A ou Proteína G.

Para anticorpos que incluem um domínio Fc, o sistema de produção de anticorpos, de preferência, sintetiza anticorpos nos quais a região Fc é glicosilada. Por exemplo, o domínio Fc de moléculas de IgG é glicosilado na asparagina 297 no domínio CH2. Esta asparagina é o sítio para modificação com oligossacarídeos do tipo biantenário ("biantennary"). Demonstrou-se que esta glicosilação é necessária para funções efetoras mediadas por receptores Fcγ e complementam C1q (Burton e Woof (1992) *Adv. Immunol.* 51:1-84; Jefferis *et al.* (1998) *Immunol. Rev.* 163:59-76). Em uma modalidade, o domínio Fc é produzido em um sistema de expressão mamífero que glicosila adequadamente o resíduo correspondente à asparagina 297. O

domínio Fc ou outra região do anticorpo pode incluir também outras modificações eucarióticas pós-translacionais.

Os anticorpos podem ser produzidos também por um animal transgênico. Por exemplo, a patente U.S. nº 5.849.992 descreve um método para expressar um anticorpo na glândula mamária de um mamífero transgênico. É construído um transgene que inclui um promotor específico do leite e ácidos nucleicos que codificam o anticorpo de interesse e uma sequência de sinais para secreção. O leite produzido pelas fêmeas de tais mamíferos transgênicos inclui, secretado dentro dele, o anticorpo de interesse. O anticorpo pode ser purificado a partir do leite, ou, para algumas aplicações, usado diretamente.

Caracterização

As propriedades ligantes de um anticorpo podem ser medidas por qualquer método-padrão, por exemplo, um dos seguintes métodos: análise BIACORE®, Ensaio Imunoabsorvente Ligado a Enzima (ELISA), Transferência de Energia por Ressonância de Fluorescência (FRET), cristalografia de raios X, análise de sequências e mutagênese de varredura. A capacidade de uma proteína inibir uma ou mais atividades de TWEAK pode ser avaliada *in vitro* ou em um modelo animal de um distúrbio, por exemplo, um distúrbio aqui descrito. De preferência, o anticorpo tem um efeito estatisticamente significativo que indica que o anticorpo inibe uma ou mais atividades de TWEAK.

Em uma modalidade, um anticorpo é avaliado quanto à inibição da capacidade de TWEAK estimular a produção de IL-8, MMP-1, PGE2, IL-6, IP-10 e RANTES em fibroblastos dérmicos. Vide Chicheportiche *et al.* (2002) *Arthritis Res.* 4(2):126-133 para obter as condições apropriados do ensaio.

Em outra modalidade, um anticorpo é avaliado quanto à sua capacidade de inibir TWEAK em estimular a proliferação de uma célula endotelial. Vide, por exemplo, US 2003-0211993 que descreve um ensaio de proliferação (bem como outros ensaios úteis) do seguinte modo: HVEC são plaqueadas em placas de microtitulação de 96 cavidades em subconfluência (4.000 células por cavidades) e cultivadas de um dia para o outro em Meio

CS-C sem adição de suplementos de crescimento. O meio é substituído por meio completo ou por meio basal. As células são cultivadas em meio basal com ou sem TWEAK (100 ng/mL), bFGF usando uma diluição 1/500 até 1/1.000 de suplemento de crescimento bFGF (Clonetics) ou 1 ng/mL (R&D Systems), VEGF (10 ng/mL) ou combinações destes fatores. Quando indicado, 10 µg/mL do anticorpo que está sendo testado ou um anticorpo de controle também é adicionado. As células são incubadas a 37°C com 5% de CO₂ por três dias e a proliferação foi medida por pulsação com ³H-Timidina durante as últimas 10 horas da cultura. A radioatividade ligada às células pode ser medida com um BETAPLATE® (EG&G Wallac, Gaithersburg, MD, EUA). Uma diminuição na proliferação mediada por TWEAK ou a combinação de TWEAK e bFGF pode indicar que o anticorpo é eficaz para bloquear a atividade de TWEAK.

Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR)

A interação da ligação de uma proteína de interesse e um alvo (por exemplo, TWEAK) pode ser analisada usando SPR. SPR ou Análise de Interação Biomolecular (BIA) detecta interações bioespecíficas em tempo real, sem marcar qualquer um dos interagentes. As mudanças na massa na superfície de ligação (indicativas de um evento de ligação) do chip da BIA em alterações do índice de refração da luz perto da superfície (o fenômeno óptico de ressonância plasmônica de superfície (SPR)). As mudanças na refratividade geram um sinal detectável, que é medido como uma indicação de reações em tempo real entre moléculas biológicas. Os métodos para usar SPR estão descritos, por exemplo, na patente US nº 5.641.640; Raether (1988), "Surface Plasmons", Springer Verlag; Sjolander e Urbaniczky (1991) *Anal. Chem.* 63:2338-2345; Szabo *et al.* (1995) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 5:699-705 e recursos *on-line* fornecidos por BIAcore International AB (Uppsala, Suécia). As informações da SPR podem ser usadas para fornecer uma medida precisa e quantitativa da constante de dissociação no equilíbrio (K_d), e parâmetros cinéticos que incluem K_{on} e K_{off} , para a ligação de uma biomolécula a um alvo.

Os epitopos podem também ser mapeados diretamente avalian-

do a capacidade de diferentes anticorpos competirem entre si pela ligação a TWEAK (por exemplo, TWEAK humano, particularmente TWEAK humano solúvel), usando técnicas cromatográficas BIAcore (Pharmacia BIA technology Handbook, "Epitope Mapping", Seção 6.3.2, (maio de 1994); vide também Johnne *et al.* (1993) *J. Immunol. Methods*, 160:191-198). Orientações gerais adicionais para avaliar anticorpos, por exemplo, em *Western blots* e ensaios de imunoprecipitação, podem ser encontradas em "Antibodies: A Laboratory Manual", editado por Harlow e Lane, Cold Spring Harbor Press (1988)).

10 Distúrbios Associados a TWEAK

Um anticorpo anti-TWEAK (tal como um anticorpo aqui descrito) pode ser usado para tratar uma série de distúrbios, tal como um distúrbio associado a TWEAK. Por exemplo, o anticorpo pode ser usado para tratar distúrbios inflamatórios, imunológicos, ou auto-imunes em pacientes, bem como distúrbios neoplásicos. Os exemplos de distúrbios inflamatórios associados a TWEAK incluem artrite reumatóide, artrite psoriática, espondilite ancilosante, doença inflamatória do intestino (incluindo colite ulcerativa e doença de Crohn), psoríase, ou miosite inflamatória. Ainda outros exemplos de distúrbios inflamatórios que podem ser tratados incluem histiocitose de células de Langerhans, síndrome da angústia respiratória do adulto/bronquite obliterante, granulomatose de Wegener, vasculite, caquexia, estomatite, fibrose pulmonar idiopática, dermatomiosite ou polimiosites, esclerite não-infecciosa, sarcoidose crônica com envolvimento pulmonar, síndromes mielodisplásicas/anemia refratária com excesso de blastos, colite ulcerativa, doença pulmonar obstrutiva crônica moderada a grave, e arterite de células gigantes.

Um indivíduo em risco de contrair um desses distúrbios, ou que foi diagnosticado como estando com esses distúrbios, ou que tem um desses distúrbios, pode receber administração de um anticorpo anti-TWEAK em uma quantidade e por um tempo para proporcionar um efeito terapêutico global. O anticorpo anti-TWEAK pode ser administrado isoladamente ou em combinação com outros agentes. Por exemplo, o documento nº USSN

60/679.518 descreve métodos para administrar um agente bloqueador de TWEAK em combinação com um agente bloqueador de TNF- α . No caso de uma terapia combinada, as quantidades e tempos de administração podem ser aqueles que proporcionam, por exemplo, um efeito terapêutico sinérgico.

- 5 Além disso, a administração do agente bloqueador de TWEAK (com ou sem o segundo agente) pode ser usada como um tratamento primário, por exemplo, de primeira linha, ou como um tratamento secundário, por exemplo, para indivíduos que têm uma resposta inadequada a uma terapia administrada anteriormente (isto é, uma terapia diferente daquela com um agente bloqueador de TWEAK).
- 10

Artrite Reumatóide (RA)

- Um anticorpo anti-TWEAK (tal como um anticorpo aqui descrito) pode ser usado para tratar artrite reumatóide e distúrbios afins. A artrite reumatóide ("RA") é uma doença inflamatória crônica que causa dor, inchaço, rigidez, e perda de função, principalmente nas articulações. A artrite reumatóide começa frequentemente na sinóvia, a membrana que circunda uma articulação, criando um saco protetor. Em muitos indivíduos que sofrem de artrite reumatóide, os leucócitos se infiltram a partir da circulação para dentro da sinóvia, causando uma inflamação anormal contínua (por exemplo, sinovite). Consequentemente, a sinóvia fica inflamada, causando quentura, vermelhidão, inchaço e dor. O colágeno na cartilagem é destruído gradualmente, estreitando o espaço articular e eventualmente danificando o osso. A inflamação causa dano erosivo do osso na área afetada. Durante este processo, as células da sinóvia crescem e se dividem anormalmente, tornando espessa a sinóvia normalmente fina, e resultando em uma articulação inchada e tígido ao toque.
- 15
- 20
- 25

- À medida que a artrite reumatóide progride, as células sinoviais anormais podem invadir e destruir a cartilagem e o osso dentro da articulação. Os músculos, ligamentos e tendões circundantes que sustentam e estabilizam a articulação podem ficar fracos e incapazes de funcionar normalmente. A artrite reumatóide pode causar também perda óssea mais generalizada que pode levar à osteoporose, tornando os ossos frágeis e mais sus-
- 30

5 cetíveis a fraturas. Todos esses efeitos causam dor, enfraquecimento e de-
formidades associadas com a artrite reumatóide. As regiões que podem ser
afetadas incluem os pulsos, as articulações metacarpofalangianas, joelhos e
a bola do pé. Frequentemente, muitas articulações podem estar envolvidas,
10 e mesmo a espinha pode ser afetada. Em cerca de 25% das pessoas com
artrite reumatóide, a inflamação de pequenos vasos sanguíneos pode causar
nódulos reumatóides, ou protuberâncias, sob a pele, que frequentemente se
formam perto das articulações. À medida que a doença progride, fluido tam-
bém pode se acumular, particularmente nos tornozelos. Muitos pacientes
15 com artrite reumatóide desenvolvem também anemia, ou um decréscimo no
número normal de hemácias.

20 A artrite reumatóide engloba inúmeros subtipos da doença, tais
como síndrome de Felty, artrite reumatóide soronegativa, artrite reumatóide
"clássica", artrite reumatóide progressiva e/ou artrite reumatóide recorrente,
15 e artrite reumatóide com vasculite. Alguns especialistas classificam a doença
em tipo 1 ou tipo 2. O tipo 1, a forma menos comum, dura poucos meses no
máximo e não deixa incapacitação permanente. O tipo 2 é crônico e dura
anos, algumas vezes a vida inteira. A artrite reumatóide pode se manifestar
também como nódulos reumatóides subcutâneos, nódulos viscerais, vasculi-
20 te causadora de úlceras nas pernas ou mononeurite múltipla, efusões pleu-
rais ou pericárdicas, linfadenopatia, síndrome de Felty, síndrome de Sjo-
gren, e episclerite. Estes subtipos da doença e também os indivíduos que
apresentam um ou mais dos sintomas acima podem ser tratados usando os
anticorpos aqui descritos.

25 A artrite reumatóide pode ser avaliada por uma série de medidas
clínicas. Alguns indícios exemplificativos incluem o escore total de Sharp
(TSS), escore de erosão de Sharp, e o índice de incapacitação HAQ. Os mé-
todos neste caso podem ser usados para conseguir uma melhora de pelos
menos um desses indícios. As propriedades terapêuticas de um anticorpo
30 anti-TWEAK para tratar artrite reumatóide podem ser avaliadas em um mo-
delo animal, por exemplo, usando o modelo de artrite induzida por colágeno
no camundongo (mCIA) (vide, por exemplo, Stuart *et al.*, *J. Clin. Invest.*

69:673-683 (1982).

Esclerose Múltipla

Um anticorpo anti-TWEAK (tal como um anticorpo aqui descrito) pode ser usado para tratar esclerose múltipla (MS) e distúrbios afins. A esclerose múltipla é uma doença do sistema nervoso central que se caracteriza por inflamação e perda de bainhas de mielina.

Os pacientes que têm esclerose múltipla podem ser identificados por critérios que estabelecem um diagnóstico de esclerose múltipla clinicamente definitivo, como definido no seminário sobre diagnóstico de esclerose múltipla (Poser *et al.*, *Ann. Neurol.* (1983) 13:227). Resumidamente, um indivíduo com esclerose múltipla clinicamente definitiva teve dois ataques e comprovação clínica de duas lesões ou comprovação clínica de uma lesão e comprovação paraclínica de outra lesão separada. A esclerose múltipla definitiva pode ser diagnosticada também por comprovação de dois ataques e bandas oligoclonais de IgG no líquido cefalorraquidiano ou por combinação de um ataque, comprovação clínica de duas lesões e banda oligoclonal de IgG no líquido cefalorraquidiano.

O tratamento eficaz de esclerose múltipla pode ser examinado de várias maneiras diferentes. Os parâmetros que se seguem podem ser avaliados para calibrar a eficácia do tratamento. Três critérios principais são usados: EDSS (escala do estado de incapacitação prolongado), aparência de exacerbações ou MRI (reprodução de imagens por ressonância magnética). A EDSS é um meio para graduar o enfraquecimento clínico em virtude da esclerose múltipla (Kurtzke (1983) *Neurology* 33:1444). Oito sistemas funcionais são avaliados quanto ao tipo e gravidade da degradação neurológica. Resumidamente, antes do tratamento, os pacientes são avaliados quanto ao enfraquecimento nos seguintes sistemas: piramidal, cerebelar, tronco cerebral, sensorio, intestino e bexiga, visual, cerebral, e outros. Acompanhamentos são conduzidos em intervalos definidos. As escalas ficam na faixa entre 0 (normal) e 10 (morte em virtude de esclerose múltipla). Uma diminuição na EDSS indica um tratamento eficaz (Kurtzke (1994) *Ann. Neurol.* 36:573-79).

Um modelo animal exemplificativo para esclerose múltipla é o modelo de encefalite auto-imune experimental no camundongo (EAE), como descrito, por exemplo, em Tuohy *et al.* (*J. Immunol.* (1988) 141: 1126-1130); Sobel *et al.* (*J. Immunol.* (1984) 132: 2393-2401); e Traugott (*Cell Immunol.* (1989) 119: 114-129). Os camundongos podem receber administração de um anticorpo aqui descrito antes da indução da EAE. Os camundongos são avaliados quanto a critérios característicos para determinar a eficácia do anticorpo.

Acidente Vascular Cerebral

Um anticorpo anti-TWEAK (tal como um anticorpo aqui descrito) pode ser usado para tratar um indivíduo que experimentou um acidente vascular cerebral, por exemplo, um acidente vascular cerebral tromboembólico ou hemorrágico (por exemplo, dentro das últimas 48, 24, 12, 8, ou 2 horas), ou para prevenir um acidente vascular cerebral, por exemplo, em um indivíduo em risco de ter um acidente vascular cerebral. Os métodos exemplificativos estão descritos no documento nº USSN 60/653.811. O acidente vascular cerebral é um termo genérico para lesão aguda do cérebro resultante de doença de vasos sanguíneos. O acidente vascular cerebral pode ser classificado em pelo menos duas categorias principais: acidente vascular cerebral hemorrágico (resultante de vazamento de sangue fora dos vasos sanguíneos normais) e acidente vascular cerebral isquêmico (isquemia cerebral em virtude de falta de suprimento de sangue). Alguns episódios que podem causar acidente vascular cerebral isquêmico incluem trombose, embolia, e hipoperfusão sistêmica (com isquemia e hipoxia resultantes).

O acidente vascular cerebral causa, geralmente morte e lesão neuronal no cérebro por privação de oxigênio e episódios secundários. A área do cérebro que morre como resultado da falta de suprimento de sangue ou outra lesão é denominada um infarto. Em alguns casos, os tratamentos aqui descritos podem ser usados para reduzir ou minimizar o tamanho de um infarto, por exemplo, reduzindo episódios secundários que causam morte ou lesão neuronal.

A obstrução de uma artéria cerebral resultante de um trombo

que se acumulou sobre a parede de uma artéria do cérebro é denominada geralmente trombose cerebral. Na embolia cerebral, o material oclusivo que bloqueia a artéria cerebral aparece a jusante na circulação (por exemplo, um êmbolo é transportado para a artéria cerebral a partir do coração). Devido ao

5 fato de que é difícil discernir se um acidente vascular cerebral é causado por trombose ou embolia, o termo tromboembolia é utilizado para cobrir ambos tipos de acidente vascular cerebral. A hipoperfusão sistêmica pode advir como uma consequência de níveis sanguíneos diminuídos, hematócritos reduzidos, baixa pressão sanguínea ou incapacidade do coração bombear

10 sangue adequadamente.

Além disso, um anticorpo anti-TWEAK pode ser administrado como uma terapia profilática para acidente vascular cerebral, ou como um seu componente, por exemplo, para um indivíduo que experimentou um ataque isquêmico transiente (TIA) ou está apresentando sintomas de ataque

15 isquêmico transiente (TIA).

Distúrbios Neurais

Um anticorpo anti-TWEAK (tal como um anticorpo aqui descrito) pode ser usado para tratar ou prevenir distúrbios neurais tais como traumatismos neurais mecânicos e distúrbios neurodegenerativos. Os exemplos de tramatismos neurais mecânicos incluem lesão do cordão espinhal

20 (SCI) e lesão cerebral traumática (TBI). Os exemplos de distúrbios neurodegenerativos incluem esclerose lateral amiotrófica (ALS), paralisia bulbar progressiva (PBP), esclerose lateral primária (PLS), atrofia muscular progressiva (PMA), Doença de Parkinson, Doença de Huntington (HD), e Doença de

25 Alzheimer. Vide, por exemplo, documento nº USSN 60/653,813. Em uma modalidade, o distúrbio neuronal caracteriza-se principalmente por destruição ou morte de células nervosas, por exemplo, de neurônios motores (por exemplo, esclerose lateral amiotrófica (ALS)), de neurônios do corpo estriado de gânglios basais e/ou neurônios corticais (por exemplo, doença de Huntington),

30 de neurônios da substância negra (por exemplo, doença de Parkinson).

Câncer

TWEAK e seus receptores podem estar envolvidos no desenvol-

vimento de pelo menos alguns tipos de câncer, por exemplo, um câncer pancreático. Um anticorpo anti-TWEAK (tal como um anticorpo aqui descrito) pode ser usado para tratar ou prevenir cânceres (por exemplo, adenocarcinomas) e outros distúrbios neoplásicos. Vide, por exemplo, "TREATMENT
5 OF CANCER," USSN 60/685,465, depositado em 27 de maio de 2005.

Composições Farmacêuticas

Um anticorpo anti-TWEAK (tal como um anticorpo aqui descrito) pode ser formulado como uma composição farmacêutica para administração a um indivíduo, por exemplo, para tratar um distúrbio aqui descrito. Tipical-
10 mente, uma composição farmacêutica inclui um carreador farmacêuticamente aceitável. Como aqui utilizado, o termo "carreador farmacêuticamente aceitável" inclui quaisquer e todos solventes, meios de dispersão, revestimentos, agentes antibacterianos e antifúngicos, agentes isotônicos e retardantes da absorção, e similares, que são fisiologicamente compatíveis. A composi-
15 ção pode incluir um sal farmacêuticamente aceitável, por exemplo, um sal de adição de ácido ou um sal de adição de base (vide, por exemplo, Berge, S.M., *et al.* (1977) *J. Pharm. Sci.* 66:1-19).

A formulação farmacêutica é uma técnica bem-estabelecida, e está descrita adicionalmente, por exemplo, em Gennaro (editor), "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20ª edição, Lippincott, Williams & Wilkins (2000) (ISBN: 0683306472); Ansel *et al.*, "Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems", 7ª Edição, Lippincott Williams & Wilkins Publishers (1999) (ISBN: 0683305727); e Kibbe (editor), "Handbook of Pharmaceutical Excipients American Pharmaceutical Association", 3ª edição
20 (2000) (ISBN: 091733096X).
25

As composições farmacêuticas podem estar em uma série de formas. Elas incluem, por exemplo, formas de dosagem líquidas, semi-sólidas e sólidas, tais como soluções líquidas (por exemplo, soluções injetáveis e para infusão), dispersões ou suspensões, comprimidos, pílulas, pós,
30 lipossomas e supositórios. A forma preferida pode depender do modo de administração pretendido e da aplicação terapêutica. Tipicamente, as composições para os agentes aqui descritos estão na forma de soluções injetá-

veis ou para infusão.

Em uma modalidade, o anticorpo anti-TWEAK é formulado com materiais excipientes, tais como cloreto de sódio, fosfato dibásico de sódio heptaidratado, fosfato monobásico de sódio, e um estabilizador. Ele pode ser
5 fornecido, por exemplo, em uma solução tamponada em uma concentração apropriada e pode ser estocado a 2-8°C.

Tais composições podem ser administradas por um modo parenteral (por exemplo, injeção intravenosa, subcutânea, intraperitoneal, ou intramuscular). As expressões "administração parenteral" e "administrado
10 por via parenteral", como aqui utilizadas, significam modos de administração diferentes de administração entérica e tópica, usualmente por injeção, e incluem, sem limitações, injeção intravenosa, intramuscular, intra-arterial, intratecal, intracapsular, intra-orbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutânea, subcuticular, intra-articular, subcapsular, suba-
15 racnóide, intra-espinhal, epidural e intra-esternal e infusão.

A composição pode ser formulada como uma solução, microemulsão, dispersão, lipossoma, ou outra estrutura ordenada apropriada para estocagem estável em alta concentração. As soluções injetáveis estéreis podem ser preparadas incorporando um agente aqui descrito na quantidade
20 necessária em um solvente apropriado com um ingrediente ou uma combinação de ingredientes enumerados acima, conforme necessário, e em seguida, filtração em condições estéreis. Geralmente, as dispersões são preparadas incorporando um agente aqui descrito em um veículo estéril que contém um meio de dispersão básico e os outros ingredientes necessários
25 escolhidos entre aqueles enumerados acima. No caso de pós estéreis para a preparação de soluções injetáveis estéreis, os métodos de preparação preferidos são secagem a vácuo e secagem por congelamento que produzem um pó de um agente aqui descrito mais qualquer ingrediente adicional desejado de uma sua solução previamente filtrada em condições estéreis. A fluidez
30 apropriada de uma solução pode ser mantida, por exemplo, pelo uso de um revestimento, tal como lecitina, pela manutenção do tamanho de partícula requerido no caso de uma dispersão, e pelo uso de tensoativos. A absorção

prolongada de composições injetáveis pode ser gerada incluindo na composição um agente que retarda a absorção, por exemplo, sais monoestearato e gelatina.

Em certas modalidades, o anticorpo anti-TWEAK pode ser preparado com um carreador que protegerá o composto contra liberação rápida, tal como uma formulação com liberação controlada, incluindo implantes, e sistemas de distribuição microencapsulados. Polímeros biocompatíveis biodegradáveis podem ser usados, tais como copolímeros de etileno e acetato de vinila, polianidridos, poli(ácido glicólico), colágeno, poli(ortoésteres), e poli(ácido láctico). Muitos métodos para a preparação dessas formulações são patenteados ou geralmente conhecidos. Vide, por exemplo, "Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems", J.R. Robinson, editor, Marcel Dekker, Inc., New York (1978).

Um anticorpo anti-TWEAK pode ser modificado, por exemplo, com uma porção que melhora sua estabilização e/ou retenção na circulação, por exemplo, no sangue, soro, ou outros tecidos, por exemplo, em pelo menos 1,5, 2, 5, 10, ou 50 vezes. O anticorpo modificado pode ser avaliado para determinar se ele consegue alcançar os locais da inflamação, por exemplo, as articulações.

Por exemplo, o anticorpo anti-TWEAK pode ser associado com (por exemplo, conjugado a) um polímero, por exemplo, um polímero substancialmente não-antigênico, tal como um poli(óxido de alquilenos) ou um poli(óxido de etileno). Os polímeros apropriados variarão substancialmente em peso. Os polímeros que têm pesos moleculares numéricos médios na faixa entre cerca de 200 e cerca de 35.000 dáltons (ou cerca de 1.000 a cerca de 15.000, e 2.000 a cerca de 12.500) podem ser usados.

Por exemplo, o anticorpo anti-TWEAK pode ser conjugado a um polímero solúvel em água, por exemplo, um polímero polivinílico hidrofílico, por exemplo, poli(álcool vinílico) ou poli(vinil-pirrolidona). Os exemplos de tais polímeros incluem homopolímeros de poli(óxidos de alquilenos), tais como polietilenoglicol (PEG) ou polipropilenoglicóis, polióis polioxietilenados, seus copolímeros e copolímeros em bloco deles, desde que a solubilidade

em água dos copolímeros em bloco seja mantida. Os polímeros úteis adicionais incluem polioxiálquilenos tais como polioxietileno, polioxipropileno, e copolímeros em bloco de polioxietileno e polioxipropileno; polimetacrilatos; carbômeros; e polissacarídeos ramificados ou não-ramificados.

5 Em algumas implementações, o anticorpo anti-TWEAK pode ser também acoplado ou associado de outra forma com um marcador ou outro agente, por exemplo, outro agente terapêutico, tal como um agente citotóxico ou citostático, embora em muitas modalidades esta configuração seja desnecessária. Os exemplos de agentes citotóxicos e quimioterápicos incluem
10 taxol, citocalasina B, gramicidina D, vinblastina, doxorubicina, daunorubicina, um maitansinóide (por exemplo, maitansinol ou o maitansinóide DM1, um derivado de maitansina que contém sulfidril), mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-desidrotosterona, glicocorticóides, procaína, taxano, tetracaína, lidocaína, propranolol, e puromicina e seus análogos ou homólogos.

15 Quando o anticorpo anti-TWEAK é usado em combinação com um segundo agente (por exemplo, um anticorpo anti-TNF- α ou outro agente), os dois agentes podem ser formulados separadamente ou conjuntamente. Os agentes podem ser formulados ou usados de outra forma em uma quantidade sinergicamente eficaz. É possível também usar um ou ambos
20 agentes em quantidades menores do que aquelas que seriam usadas por monoterapia. Por exemplo, as respectivas composições farmacêuticas podem ser misturadas, por exemplo, momentos antes da administração, e administradas juntas ou podem ser administradas separadamente, por exemplo, na mesma hora ou em horas diferentes.

25 É possível também usar outros agentes bloqueadores de TWEAK, por exemplo, os agentes descritos em USSN 60/679.518. O agente pode ser qualquer tipo de composto (por exemplo, molécula orgânica ou inorgânica pequena, ácido nucléico, proteína, ou peptidomimético) que pode ser administrado a um indivíduo. Em uma modalidade, o agente bloqueador é
30 um composto biológico, por exemplo, uma proteína que tem um peso molecular entre 5 e 300 kDa. Por exemplo, um agente bloqueador de TWEAK pode inibir a ligação de TWEAK a um receptor de TWEAK. Os agentes blo-

queadores de TWEAK exemplificativos, que não os anticorpos que se ligam a TWEAK, incluem anticorpos que se ligam a TWEAK-R e formas solúveis de TWEAK-R (por exemplo, Fn14) que competem com TWEAK-R da superfície celular pela ligação a TWEAK. Outros agentes terapêuticos aqui descritos também podem ser fornecidos como uma composição farmacêutica, por exemplo, por métodos usuais ou pelo método aqui descrito.

Administração

O anticorpo anti-TWEAK pode ser administrado a um indivíduo, por exemplo, um ser humano, por uma série de métodos. Para muitas aplicações, a via de administração é uma entre: injeção ou infusão intravenosa (IV), injeção subcutânea (SC), por via intraperitoneal (IP), ou injeção intramuscular. É possível também usar distribuição intra-articular. Outros modos de administração parenteral também podem ser usados. Os exemplos desses modos incluem: injeção intra-arterial, intratecal, intracapsular, intra-orbital, intracardiaca, intradérmica, transtraceal, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subaracnóide, intra-espinhal, e epidural e intra-esternal. Em alguns casos, a administração pode ser diretamente a um local de inflamação, por exemplo, uma articulação ou outro local inflamado.

A via e/ou modo de administração do anticorpo pode ser também individualizado para o caso individual, por exemplo, monitorando o indivíduo, por exemplo, usando reprodução de imagens tomográficas, exame neurológico, e parâmetros usuais associados ao distúrbio específico, por exemplo, critérios para avaliar artrite reumatóide.

O anticorpo pode ser administrado como uma dose fixa, ou em uma dose de mg/kg. A dose pode ser também escolhida para reduzir ou evitar a produção de anticorpos contra o anticorpo anti-TWEAK. Os esquemas de dosagem são ajustados para proporcionar a resposta desejada, por exemplo, uma resposta terapêutica ou um efeito terapêutico combinatório. Geralmente, as doses do anticorpo anti-TWEAK (e, opcionalmente, de um segundo agente) podem ser usadas para fornecer para um indivíduo o agente em quantidades biodisponíveis. Por exemplo, as doses na faixa entre 0,1-100 mg/kg, 0,5-100 mg/kg, 1 mg/kg –100 mg/kg, 0,5-20 mg/kg, 0,1-10

mg/kg, ou 1-10 mg/kg podem ser administradas. Outras doses também podem ser usadas.

A forma de dosagem unitária ou "dose fixa", como aqui utilizada, refere-se a unidades fisicamente distintas apropriadas como dosagens unitárias para os indivíduos a serem tratados; cada unidade contém uma quantidade predeterminada do composto ativo, calculada para produzir o efeito terapêutico desejado em associação com o carreador farmacêutico requerido e opcionalmente em associação com o outro agente. Uma única ou múltiplas dosagens podem ser dadas. Alternativamente, ou adicionalmente, o anticorpo pode ser administrado por intermédio de infusão contínua.

Uma dose do anticorpo anti-TWEAK pode ser administrada, por exemplo, em um intervalo periódico durante um período de tempo (um curso de tratamento) suficiente para englobar pelo menos 2 doses, 3 doses, 5 doses, 10 doses, ou mais, por exemplo, uma ou duas vezes ao dia, ou cerca de uma a quatro vezes por semana, ou de preferência semanalmente, quinzenalmente, mensalmente, por exemplo, durante entre cerca de 1 e 12 semanas, de preferência entre 2 e 8 semanas, mais preferivelmente entre cerca de 3 e 7 semanas, e ainda mais preferivelmente entre cerca de 4, 5, ou 6 semanas. Os fatores que podem influenciar a dosagem e o cronograma necessários para tratar eficazmente um indivíduo incluem, por exemplo, a gravidade da doença ou distúrbio, formulação, via de administração, tratamentos anteriores, saúde geral e/ou idade do indivíduo, e outras doenças presentes. Além disso, o tratamento de um indivíduo com uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto pode incluir um único tratamento ou, de preferência, pode incluir uma série de tratamentos. Os modelos animais também podem ser usados para determinar uma dose útil, por exemplo, uma dose ou esquema inicial.

Caso um indivíduo esteja em risco de desenvolver um distúrbio inflamatório ou outro distúrbio aqui descrito, o anticorpo pode ser administrado antes do início pleno do distúrbio, por exemplo, como uma medida preventiva. A duração desse tratamento preventivo pode ser uma única dosagem do anticorpo ou o tratamento pode continuar (por exemplo, múltiplas

dosagens). Por exemplo, um indivíduo em risco de contrair o distúrbio ou que tem uma predisposição para o distúrbio pode ser tratado com o anticorpo por dias, semanas, meses, ou mesmo por anos, de modo a prevenir que o distúrbio ocorra ou fulmine.

- 5 Uma composição farmacêutica pode incluir uma "quantidade terapêuticamente eficaz" de um agente aqui descrito. Tais quantidades eficazes podem ser determinadas levando em conta o efeito do agente administrado, ou o efeito combinatório de agentes, caso mais do que um agente seja usado. Uma quantidade terapêuticamente eficaz de um agente pode também
- 10 variar de acordo com fatores, tais como o estado da doença, idade, sexo, e peso do indivíduo, e a capacidade do composto eliciar uma resposta desejada no indivíduo, por exemplo, uma melhora de pelo menos um parâmetro do distúrbio, ou uma melhora de pelo menos um sintoma do distúrbio. Uma quantidade terapêuticamente eficaz é também uma na qual quaisquer
- 15 efeitos tóxicos ou prejudiciais da composição são contrabalançados pelos efeitos terapêuticamente benéficos.

Dispositivos e Kits para Terapia

- As composições farmacêuticas que incluem o anticorpo anti-TWEAK podem ser administradas com um dispositivo médico. O dispositivo
- 20 pode ser projetado com características tais como portabilidade, estocagem à temperatura ambiente, e facilidade de uso, de tal modo que ele possa ser usado em situações emergenciais, por exemplo, por um indivíduo destreinado ou pelo pessoal de atendimento emergencial no campo, removido de instalações médicas e de outros equipamentos médicos. O dispositivo pode
- 25 incluir, por exemplo, um ou mais alojamentos para armazenar as preparações farmacêuticas que incluem o anticorpo anti-TWEAK, e podem ser configurados para distribuir uma ou mais doses unitárias do anticorpo. O dispositivo pode ser ainda configurado para administrar um segundo agente, por exemplo, um anticorpo anti-TNF- α , seja como uma única composição farmacêutica que inclui também o anticorpo anti-TWEAK ou como duas composi-
- 30 ções farmacêuticas separadas.

 Por exemplo, a composição farmacêutica pode ser administrada

com um dispositivo para injeção hipodérmica sem agulha, tais como os dispositivos descritos em US 5.399.163; 5.383.851; 5.312.335; 5.064.413; 4.941.880; 4.790.824; ou 4.596.556. Os exemplos de implantes e módulos bem-conhecidos incluem: US 4.487.603, que descreve uma bomba de microinfusão implantável para distribuir uma medicação em uma taxa controlada; US 4.486.194, que descreve um dispositivo terapêutico para administrar medicamentos através da pele; US 4.447.233, que descreve uma bomba para infusão de medicações para distribuir uma medicação em uma taxa de infusão precisa; US 4.447.224, que descreve um aparelho implantável para infusão com vazão variável, para distribuição contínua de fármacos; US 4.439.196, que descreve um sistema de distribuição osmótica de fármacos, tendo uma câmara multicompartimentada; e US 4.475.196, que descreve um sistema de distribuição osmótica de fármacos. Muitos outros dispositivos, implantes, sistemas de distribuição, e módulos também são conhecidos.

Um anticorpo anti-TWEAK pode ser fornecido em um kit. Em uma modalidade, o kit inclui (a) um recipiente que contém uma composição que inclui o anticorpo anti-TWEAK, e opcionalmente, (b) material instrutivo. O material instrutivo pode ser um material descritivo, informativo, promocional, ou outro material que refere-se aos métodos aqui descritos e/ou ao uso dos agentes para benefício terapêutico.

Em uma modalidade, o kit inclui também um segundo agente para tratar um distúrbio inflamatório, por exemplo, um anticorpo anti-TNF- α . Por exemplo, o kit inclui um primeiro recipiente que contém uma composição que inclui o anticorpo anti-TWEAK, e um segundo recipiente que inclui o segundo agente.

O material informativo dos kits não está limitado em sua forma. Em uma modalidade, o material informativo pode incluir informações sobre a produção do composto, peso molecular do composto, concentração, data de validade, lote, informações sobre o local de fabricação, e assim por diante. Em uma modalidade, o material informativo refere-se a métodos para administrar o anticorpo anti-TWEAK, por exemplo, em uma dose, forma de dosagem ou modo de administração apropriado (por exemplo, uma dose, forma

de dosagem, ou modo de administração aqui descrito), para tratar um indivíduo que teve ou que está em risco de contrair um distúrbio inflamatório, ou outro distúrbio aqui descrito. As informações podem ser fornecidas em uma série de formatos, incluindo um texto impresso, material legível por computador, gravação de vídeo, ou gravação de áudio, ou informações que fornecem um link ou endereço para obter material substantivo, por exemplo, na internet.

Além do anticorpo, a composição no kit pode incluir outros ingredientes, tais como um solvente ou tampão, um estabilizador, ou um conservante. O anticorpo pode ser fornecido em qualquer forma, por exemplo, na forma líquida, seca ou liofilizada, de preferência substancialmente puro e/ou estéril. Quando os agentes são fornecidos em uma solução líquida, a solução líquida é, de preferência, uma solução aquosa. Quando os agentes são fornecidos em uma forma seca, a reconstituição é geralmente pela adição de um solvente apropriado. O solvente, por exemplo, água esterilizada ou tampão, pode ser opcionalmente fornecido no kit.

O kit pode incluir um ou mais recipientes para a composição ou composições que contêm os agentes. Em algumas modalidades, o kit contém recipientes, divisões ou compartimentos separados para a composição e para o material informativo. Por exemplo, a composição pode ficar contida em um vidro, frasco ou seringa, e o material informativo pode ficar contido em um envelope ou caixa de plástico. Em outras modalidades, os elementos separados do kit ficam contidos dentro de um único recipiente não dividido. Por exemplo, a composição fica contida em um vidro, frasco ou seringa que tem afixado a ele o material informativo na forma de um rótulo. Em algumas modalidades, o kit inclui uma pluralidade (por exemplo, um pacote) de recipientes individuais, cada um contendo uma ou mais formas de dosagem unitárias (por exemplo, uma forma de dosagem aqui descrita) dos agentes. Os recipientes podem incluir uma combinação de dosagem unitária, por exemplo, uma unidade que inclui o anticorpo anti-TWEAK e o segundo agente, por exemplo, em uma proporção desejada. Por exemplo, o kit inclui uma pluralidade de seringas, ampolas, cartelas de folha de alumínio, embalagem de

blister, ou dispositivos médicos, por exemplo, cada um contendo uma única dose unitária da combinação. Os recipientes dos kits podem ser herméticos, à prova d'água (por exemplo, impermeáveis a mudanças de umidade ou evaporação), e/ou impenetrável à luz.

- 5 O kit inclui opcionalmente um dispositivo apropriado para administração da composição, por exemplo, uma seringa ou outro dispositivo de distribuição apropriado. O dispositivo pode ser fornecido pré-carregado com um ou ambos agentes ou pode estar vazio, porém apropriado para ser carregado.

10 Assesto de Células que Expressam TWEAK

- Os anticorpos anti-TWEAK aqui descritos podem ser usados para assestar uma carga útil contra uma célula que expressa TWEAK ou contra um tecido ou outra estrutura associada com TWEAK. Por exemplo, os anticorpos podem ser afixados a um vírus ou partícula semelhante a vírus que
15 pode distribuir um gene exógeno (por exemplo, para terapia gênica) ou para um lipossoma, por exemplo, um lipossoma que encapsula um agente terapêutico ou gene exógeno. Um método exemplificativo para usar um anticorpo para assestar um vírus está descrito em Roux *et al.* (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1989) 86:9079-9083. Vide também, por exemplo, *Curr. Gene Ther.* (2005) 5:63-70; e *Hum. Gene Ther.* (2004) 15:1034-1044.
20

- O Abs anti-TWEAK desta invenção pode ser anexado a lipossomas que contêm um agente terapêutico, tal como agentes quimioterápicos. A anexação de anticorpos a lipossomas pode ser realizada por qualquer agente reticulante conhecido, tais como agentes reticulantes heterobifuncionais que foram amplamente utilizados para acoplar toxinas ou agentes quimioterápicos a anticorpos para distribuição direcionada. Por exemplo, a conjugação a lipossomas pode ser realizada usando o reagente reticulante direcionado a carboidratos, hidrazida do ácido 4-(4-maleimidofenil)-butírico (MPBH) (Duzgunes *et al.* (1992) *J. Cell. Biochem. Abst.* Suplemento 16E
25 77). Os lipossomas que contêm anticorpos podem ser preparados também por métodos bem-conhecidos (Vide, por exemplo DE 3.218.121; Epstein *et al.* (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82:3688-92 ; Hwang *et al.* (1980) *Proc.*
30

Natl. Acad. Sci. USA, 77:4030-34; US 4.485.045 e 4.544.545).

Usos Diagnósticos

Os anticorpos anti-TWEAK podem ser usados em um método diagnóstico para detectar a presença de um TWEAK, *in vitro* (por exemplo, uma amostra biológica, tal como um tecido, biópsia) ou *in vivo* (por exemplo, reprodução de imagens *in vivo* em um indivíduo). Por exemplo, os anticorpos anti-TWEAK humanos ou efetivamente humanos podem ser administrados a um indivíduo para detectar TWEAK dentro do indivíduo. Por exemplo, o anticorpo pode ser marcado, por exemplo, com um marcador detectável por MRI ou um marcador radioativo. O indivíduo pode ser avaliado usando um meio para detectar o marcador detectável. Por exemplo, o indivíduo pode ser escaneado para avaliar a localização do anticorpo dentro do indivíduo. Por exemplo, o indivíduo é submetido a um exame de reprodução de imagens, por exemplo, por RMN ou outro meio tomográfico.

Os exemplos de marcadores úteis para reprodução de imagens diagnósticas incluem marcadores radioativos tais como ^{131}I , ^{111}In , ^{123}I , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{32}P , ^{33}P , ^{125}I , ^3H , ^{14}C , e ^{188}Rh , marcadores fluorescentes tais como fluoresceína e rodamina, marcadores ativos para ressonância magnética nuclear, isotopos emissores de pósitrons detectáveis por um escaneador de tomografia de emissão de pósitrons ("PET"), quimioluminescentes tais como luciferina, e marcadores enzimáticos tais como peroxidase ou fosfatase. Os emissores de radiação de curto alcance, tais como isotopos detectáveis por sondas detectoras de curto alcance, também podem ser empregados. O ligante de proteína pode ser marcado com esses reagentes usando técnicas conhecidas. Por exemplo, vide Wensel e Meares (1983) "Radioimmunoimaging and Radioimmunotherapy", Elsevier, New York para obter técnicas referentes à marcação radioativa de anticorpos, e Colcher *et al.* (1986) *Meth. Enzymol.* 121: 802-816.

O indivíduo pode passar pelo exame de reprodução de imagens *in vivo* usando técnicas conhecidas tais como escaneamento ("scanning") radionuclear, usando, por exemplo, uma câmera gama ou tomografia de emissão. Vide, por exemplo, A.R. Bradwell *et al.*, "Developments in Antibody

Imaging", *Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy*, R.W. Baldwin *et al.*, (editores), páginas 65-85 (Academic Press 1985). Alternativamente, pode ser usado um escaneador de tomografia transaxial de emissão de pósitrons, tal como aquele designado Pet VI, disponível no Brookhaven National Laboratory, onde o marcador radiativo emite pósitrons (por exemplo, ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O , e ^{13}N).

Agentes de Contraste para MRI

A Reprodução de Imagens por Ressonância Magnética (MRI) usa RMN para visualizar as características internas de indivíduos vivos, e é útil para prognóstico, diagnose, tratamento, e cirurgia. A MRI pode ser usada sem compostos rastreadores radioativos com benefícios óbvios. Algumas técnicas de MRI estão resumidas em EP0 502 814 A. Geralmente, as diferenças relacionadas às constantes tempo de relaxamento T1 e T2 de prótons de água em diferentes ambientes, são usadas para gerar uma imagem. Entretanto, estas diferenças podem ser insuficientes para fornecer imagens nítidas de alta resolução.

As diferenças nessas constantes de tempo de relaxamento podem ser intensificadas por agentes de contraste. Os exemplos desses agentes de contraste incluem inúmeros agentes magnéticos, agentes paramagnéticos (que alteram principalmente T1) e agentes ferromagnéticos ou superparamagnéticos (que alteram principalmente a resposta T2). Os quelantes (por exemplo, os quelantes EDTA, DTPA e NTA) podem ser usados para anexar (e reduzir a toxicidade) de algumas substâncias paramagnéticas (por exemplo, Fe^{3+} , Mn^{2+} , Gd^{3+}). Outros agentes podem estar na forma de partículas, por exemplo, com um diâmetro menor do que $10\text{ }\mu\text{m}$ a cerca de 10 nm). As partículas podem ter propriedades ferromagnéticas, antiferromagnéticas ou superparamagnéticas. As partículas podem incluir, por exemplo, magnetita (Fe_3O_4), $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, ferritas, e outros compostos minerais magnéticos de elementos de transição. As partículas magnéticas podem incluir um ou mais cristais magnéticos com e sem material não-magnético. O material não-magnético pode incluir polímeros sintéticos ou naturais (tais como sefarose, dextrano, dextrina, amido, e similares).

Os anticorpos anti-TWEAK podem ser marcados também com um grupo indicador que contém o átomo de ^{19}F ativo em RMN, ou uma pluralidade desses átomos, desde que (i) substancialmente a totalidade dos átomos de flúor abundantes na natureza sejam o isótopo ^{19}F e assim sendo

5 substancialmente todos compostos que contém flúor sejam ativos em RMN; (ii) muitos compostos polifluorados quimicamente ativos, tais como anidrido trifluoracético, estejam disponíveis comercialmente a um custo relativamente baixo, e (iii) muitos compostos fluorados tenham se demonstrado medica-

10 dos utilizados para transportar oxigênio como substitutos de hemoglobina. Depois de permitir algum tempo para incubação, uma MRI de corpo inteiro é conduzida usando um aparelho tal como aqueles descritos por Pykett (1982) *Scientific American*, 246:78-88, para localizar e reproduzir a imagem da distribuição de TWEAK.

15 Em outro aspecto, a invenção descreve um método para detectar a presença de TWEAK em uma amostra *in vitro* (por exemplo, uma amostra biológica, tal como soro, plasma, tecido, biópsia). O método em questão pode ser usado para diagnosticar um distúrbio, por exemplo, um distúrbio associado a células imunes. O método inclui: (i) contactar a amostra ou

20 uma amostra de controle em contato com o anticorpo anti-TWEAK; e (ii) avaliar a amostra quanto à presença de TWEAK, por exemplo, detectando a formação de um complexo entre o anticorpo anti-TWEAK e TWEAK, ou detectando a presença do anticorpo ou TWEAK. Por exemplo, o anticorpo pode ser imobilizado, por exemplo, sobre um suporte, e a retenção do antígeno

25 sobre o suporte é detectada, e/ou vice-versa. Uma amostra de controle pode ser incluída. Uma mudança estatisticamente significativa na formação do complexo na amostra em relação à amostra de controle pode ser indicativa da presença de TWEAK na amostra. Geralmente, um anticorpo anti-TWEAK pode ser usado em aplicações que incluem polarização por fluorescência,

30 microscopia, ELISA, centrifugação, cromatografia, e seleção de células (por exemplo, seleção de células ativada por fluorescência).

Exemplo 1

A sequência do domínio variável da cadeia pesada de P2D10 murino, com CDRs sublinhadas, é:

1 EVQLVESGGG LVRPGGSLKL FCAASGFTFS RYAMSWVRQS PEKRLEWVAE
 51 ISSGGSYPYY PDTVTGRFTI SRDNAKNTLY LEMSSLKSED TAMY^YCARVL
 5 101 YYDYDGDRIE VMDYWGGGTA VIVSS (SEQ ID NO: 50)

Este é um domínio variável da cadeia pesada murino subgrupo 3D.

A sequência do domínio variável da cadeia leve de P2D10 murino, com CDRs sublinhadas, é:

10 1 DVVMTQSPLS LSVSLGDQAS ISCRSSQSLV SSKGNTYLHW YLQKPGQSPK
 51 FLIYKVSNRE SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVAAEDLGV YFCSQSTHFP
 101 RTFGGGTTLE IK (SEQ ID NO: 51)

Esta é uma cadeia leve murina do subgrupo 2 kapa.

Os seguintes esqueletos de aceptores humanos foram escolhidos para huP2D10: domínio variável da cadeia pesada humana de 56-84m subgrupo 3 (número de acesso da base de dados NCBI GI:33318898, Scamurra et al., submissão direta). A sequência com CDRs sublinhadas é a seguinte:

1 EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMSW RQA PGKGLEWVAN
 51 IKQDGSEKYY VDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAE D TAVYYCARDP
 20 101 MTTVVKPSLA TNDYWGGGTL VTVSS (SEQ ID NO: 52)

A sequência do domínio variável da cadeia leve de K107 humano subgrupo 2 (número de acesso da base de dados NCBI GI: 21669075, Akahori et al., submissão direta), com CDRs sublinhadas é:

1 DVVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSL HSNGYNYLDW YLQKPGQSPQ
 25 51 LLTYLGSNRA SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCMQALQTP
 101 LTFGGGTKVE IK (SEQ ID NO: 53)

Nas sequências do aceptor humano ilustradas, as CDRs (que estão sublinhadas) são do mesmo comprimento e classes canônicas que aquelas nos domínios variáveis de muP2D10.

30 Abaixo está ilustrado o alinhamento do murino P2D10 (topo) e aceptor humano 56-84 m (embaixo) domínio variável de cadeia pesada (68,8% idêntico):

```

1  EVQLVESGGGLVPRPGGSLKLFCAASGFTFSRYAMSWVRQSPEKRLEWVAE 50
   ||||| |||||. ||||:| ||||| || | |||||. | | ||||
1  EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVAN 50
5
51  ISSGGSYPYPDTVTGRFTISRDNAKNTLYLEMSSLKSEDTAMYYCARVL 100
   |  ||  || |.| ||||| |||||. |||:|. |||. ||||. ||||
51  IKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDP 100
10  101  YYDYDGDRIEVMDYWGQGTAVIVSS 125 (SEQ ID NO: 54)
      :  ||||| | |||

```

101 MTTVVKPSLATNDYWGQGLTVTVSS 125 (SEQ ID NO: 55)

Abaixo está ilustrado o alinhamento do P2D10 murino (topo) e dos domínios variáveis com cadeia leve (embaixo) do acceptor humano K107 (75,9% idêntica):

```

1  DVVMTQSPLSLSVSLGDQASISCRSSQSLVSSKGNTYLHWYLQKPGQSPK 50
   ||||| ||||| |. |: ||||| |||||. | | || ||||| |||||.
1  DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSGNYLDWYLQKPGQSPQ 50
20
51  FLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVAEDLGVYFCSQSTHFP 100
   |||  ||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||. |||:| |. |
51  LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP 100
25  101  RTFGGGTTLEIK 112 (SEQ ID NO: 56)
      ||||| .|||
101  LTFGGGTKVEIK 112 (SEQ ID NO: 57)

```

Há duas versões da cadeia leve de huP2D10 (L1 e L2). O anticorpo huP2D10-1 refere-se a um anticorpo que inclui huP2D10 H1 e huP2D10 L1. O anticorpo huP2D10-2 refere-se a um anticorpo que inclui huP2D10 H1 e huP2D10 L2.

Abaixo está ilustrado o alinhamento do acceptor humano de 56-

84m (topo) e o domínio variável da cadeia pesada de huP2D10 H1 (embaixo):

```

1    EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVAN 50
    |||
5    1    EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYAMSWVRQAPGKGLEWVAE 50
    . . . .
51   IKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDP 100
    |  ||  ||  |.  |||
51   ISSGGSPYPYPDVTVTGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVL 100
10
101  MTTVVKPSLATNDYWQGGLTVTVSS 125 (SEQ ID NO: 58)
    :  |||
101  YYDYGDRIEVMDYWGGLTVTVSS 125 (SEQ ID NO: 59)

```

As CDRs estão sublinhadas. A cadeia pesada de huP2D10 é um
15 enxerto de CDR linear (isto é, não há retromutações no esqueleto).

Abaixo está indicado o alinhamento do acceptor kappa humano K107 (topo) e o domínio variável da cadeia leve de huP2D10 L1 (embaixo):

```

1 DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ 50
20 |||||
1 DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVSSKGNTYLHWYLQKPGQSPQ 50
51 LLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP 100
||| ||| |||||
25 51 FLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQSTHFP 100
101 LTFGGGKVEIK 112 (SEQ ID NO: 60)
|||||
101 RTFGGGKVEIK 112 (SEQ ID NO: 61)

```

30 As CDRs estão sublinhadas. A cadeia leve de huP2D10 L1 tem duas retromutações que estão indicadas em letras minúsculas no esqueleto indicado acima: L46F em FR2 e Y87F em FR3.

Abaixo está ilustrado o alinhamento do acceptor humano K107 (topo) e o domínio variável da cadeia leve de huP2D10 L2 (embaixo):

```

1   DVVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSGNYLDWYLQKPGQSPQ 50
5   |||||
1  DVVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLVSSKGNTYLHWYLQKPGQSPQ 50
    .
51  LLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP 100
    |||| |||
10 51  LLIYKVSNRFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHFP 100
    .
101  LTFGGGGTKVEIK 112 (SEQ ID NO: 62)
    |||||
101  RTFGGGGTKVEIK 112 (SEQ ID NO: 63)

```

15 As CDRs estão sublinhadas. A cadeia leve de huP2D10 L2 é um enxerto de CDR linear (sem retromutações no esqueleto).

Esta é uma sequência de aminoácidos exemplificativos da cadeia pesada de IgG1 do huP2D10 H1 maduro:

	1	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGFTFS	RYAMSWVRQA	PGKGLEWVAE
20	51	ISSGGSYPPY	PDTVTGRFTI	SRDNAKNSLY	LQMNSLRAED	TAVYYCARVI
	101	YYDYDGDRIE	VMDYWGQGT	LVTVSSASTKG	PSVFPLAPSS	KSTSGGTAAL
	151	GCLVKDYFPE	PVTVSWNSGA	LTSGVHTFPA	VLQSSGLYSL	SSVVTVPSSS
	201	LGTQTYICNV	NHKPSNTKVD	KKVEPKSCDK	THTCPPCPAP	ELLGGPSVFL
	251	FPPKPKDTLM	ISRTPEVTCV	VVDVSHEDPE	VKFNWYVDGV	EVHNAKTKPR
25	301	EEQYNSTYRV	VSVLTVLHQD	WLNQKEYKCK	VSNKALPAPI	EKTISKAKGQ
	351	PREPQVYTL	PSRDELTKNQ	VSLTCLVKGF	YPSDIAVEWE	SNGQPENNYK
	401	TTPPVLDSDG	SFFLYSKLTV	DKSRWQQGNV	FSCSVMHEAL	HNHYTQKSLS
	451	SPG (SEQ ID NO: 64)				

A numeração Kabat para o segmento V_H do domínio variável da
cadeia pesada (SED ID NO:65) está indicada abaixo:

Kabat N°	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890
hP2D10	EVQLVESGGG	LVQPGGSLRL	SCAASGFTFS	RYAMSWVRQA	PGKGLEWVAE

Kabat N° 12a3456789 0123456789 0123456789 012abc3456 78901234
 hp2D10 ISSGGSYPYY PDTVTRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAR

Esta é uma sequência de aminoácidos exemplificativa da cadeia leve de huP2D10 L1 maduro:

5 1 DVVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSLV SSKGNTYLHW YLQKPGQSPQ
 51 FLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YFCSQSTHFP
 101 RTFGGGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK
 151 VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE
 201 VTHQGLSSPV TKSFNREGEC (SEQ ID NO: 66)

10 A numeração Kabat para este segmento V_L está indicada abaixo (SEQ ID NO: 67):

Kabat N° 1234567890 1234567890 1234567abc de89012345 6789012345
 hp2D10 DVVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSLV SSKGNTYLHW YLQKPGQSPQ

15 Kabat N° 6789012345 6789012345 6789012345 6789012345 6789012345
 hp2D10 FLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YFCSQSTHFP

Esta é uma sequência de aminoácidos exemplificativa da cadeia leve de huP2D10 L2 maduro:

1 DVVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSLV SSKGNTYLHW YLQKPGQSPQ
 20 51 LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCSQSTHFP
 101 RTFGGGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK
 151 VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE
 201 VTHQGLSSPV TKSFNREGEC (SEQ ID NO: 68)

25 A numeração Kabat para este segmento V_L está indicada abaixo (SEQ ID NO: 69):

Kabat N° 1234567890 1234567890 1234567abc de89012345 6789012345
 hp2D10 DVVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSLV SSKGNTYLHW YLQKPGQSPQ
 Kabat N° 6789012345 6789012345 6789012345 6789012345 6789012345
 hp2D10 LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YFCSQSTHFP

30 Exemplo 2

O anticorpo monoclonal bloqueador para TWEAK, mP2D10, reduziu significativamente a gravidade clínica em modelos de esclerose múlti-

pla, acidente vascular cerebral, e artrite reumatóide. As farmacocinéticas (PK) do anticorpo monoclonal anti-TWEAK, mP2D10, após administração intravenosa (IV) foram modeladas.

mP2D10 foi administrado a camundongos a 1, 10 ou 100 mg/kg por intermédio de injeção IV. As concentrações séricas de mP2D10 foram determinadas usando ELISA. O perfil de concentração versus tempo de PK foi analisado usando um modelo de dois compartimentos com eliminação de primeira ordem ou eliminação Michaelis-Menten a partir do compartimento central com um volume de V1. As constantes das taxas entre os dois compartimentos foram K12 (compartimento de saída 1 até 2) e K21 (compartimento de saída 2 até 1). Para o modelos de eliminação de primeira ordem, a constante da taxa de eliminação foi K10. Para o modelo de eliminação Michaelis-Menten, o fármaco foi depurado na taxa de $V_m \cdot C_1 / (K_m + C_1)$, onde, C1 era mP2D10 na concentração no compartimento central, Vm e Km foram constantes. Os dados foram adaptados ao *software* ADAPT II *software* (D'Argenio, D.Z. e A. Schumitzky, "ADAPT II User's Guide: Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Systems Analysis Software", Biomedical Simulations Resource, Los Angeles, 1997), usando o procedimento de estimativa de possibilidade máxima ("Maximum Likelihood").

No caso do modelo de eliminação linear com dois compartimentos, V1 foi 23,2 mL/kg, K10 foi 0,0096 h⁻¹, K12 foi 2,501 e K21 foi 1,053. O valor da área sob a curva (AUC) foi 298 e o valor de Schwarz foi 304,2. No caso da eliminação linear com dois compartimentos, V1 foi 0,0235. Vm foi 9,22 mg/kg/hr, Km foi 484,2 µg/mL. K12 foi 2,348 h⁻¹, e K21 foi 0,966 h⁻¹. O valor da AUC foi 269 e o valor de Schwarz foi 276. PK de mP2D10 foi mais bem previsto por um modelo não-linear do que um modelo linear.

Os perfis de concentração versus tempo de mP2D10 foram mais bem previstos por um modelo com dois compartimentos com eliminação Michaelis-Menten do que com eliminação de primeira ordem.

Os versados nessas técnicas devem avaliar, ou devem ser capazes de determinar, usando experimentação não mais do que rotineira, muitos equivalentes às modalidades específicas aqui descritas.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIA

<110> Biogen Idec MA Inc.
 <120> ANTICORPOS LIGANTES DE TWEAK
 <130> 10274-116W01
 5 <140> PCT/US2006/019706
 <141> 2006-05-25
 <150> US 60/685,149
 <151> 2005-05-27
 <160> 69
 10 <170> FastSEQ para Windows Version 4.0
 <210> 1
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 15 <400> 1
 Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Ala Met Ser
 1 5 10
 <210> 2
 <211> 17
 20 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 2
 Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Thr
 1 5 10 15
 25 Gly
 <210> 3
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 30 <400> 3
 Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu Val Met Asp Tyr
 1 5 10 15

	<210>	4
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	Seqüência Artificial
5	<220>	
	<223>	Peptídeo gerado sinteticamente
	<220>	
	<221>	VARIANTE
	<222>	2
10	<223>	Xaa = Tyr ou Phe
	<220>	
	<221>	VARIANTE
	<222>	3
	<223>	Xaa = Asn ou Thr
15	<220>	
	<221>	VARIANTE
	<222>	5
	<223>	Xaa = Ser, Thr, Asp ou Asn
	<220>	
20	<221>	VARIANTE
	<222>	6
	<223>	Xaa = Arg ou Tyr
	<220>	
	<221>	VARIANTE
25	<222>	9
	<223>	xaa = Met, Ile ou Leu
	<220>	
	<221>	VARIANTE
	<222>	10
30	<223>	Xaa = His ou Ser
	<400>	4

Gly Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Tyr Ala Xaa Xaa

	1	5	10
	<210>	5	
	<211>	8	
	<212>	PRT	
5	<213>	Sequência Artificial	
	<220>		
	<223>	Peptídeo gerado sinteticamente	
	<220>		
	<221>	VARIANTE	
10	<222>	3	
	<223>	Xaa = Pro ou Val	
	<220>		
	<221>	VARIANTE	
	<222>	5	
15	<223>	Xaa = Thr ou Ser	
	<220>		
	<221>	VARIANTE	
	<222>	7	
	<223>	Xaa = Thr ou Lys	
20	<400>	5	
	Tyr Tyr Xaa Asp Xaa Val Xaa Gly		
	1	5	
	<210>	6	
	<211>	7	
25	<212>	PRT	
	<213>	Sequência Artificial	
	<220>		
	<223>	Peptídeo gerado sinteticamente	
	<220>		
30	<221>	VARIANTE	
	<222>	1	
	<223>	Xaa = Val ou Leu	

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 <223> Xaa = Ile ou Leu
 5 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3, 4, 6
 <223> Xaa = Tyr ou Phe
 <400> 6
 10 Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Asp
 1 5
 <210> 7
 <211> 7
 <212> PRT
 15 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
 <220>
 <221> VARIANTE
 20 <222> 1
 <223> Xaa = Asp ou Glu
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 2
 25 <223> Xaa = Arg ou Lys
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Ile, Leu, Val ou Met
 30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4

<223> Xaa = Glu, Gln ou Asp
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 5 <223> Val, Ala ou Leu
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 7
 <223> Xaa = Asp ou Glu
 10 <400> 7
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Met Xaa
 1 5
 <210> 8
 <211> 16
 15 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 8
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Ser Ser Lys Gly Asn Thr Tyr Leu His
 1 5 10 15
 20 <210> 9
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 9
 25 Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 1 5
 <210> 10
 <211> 9
 <212> PRT
 30 <213> Mus musculus
 <400> 10
 Ser Gln Ser Thr His Phe Pro Arg Thr

1	5
<210>	11
<211>	16
<212>	PRT
5 <213>	Seqüência Artificial
<220>	
<223>	Peptídeo gerado sinteticamente
<220>	
<221>	VARIANTE
10 <222>	1
<223>	Xaa = Arg ou Lys
<220>	
<221>	VARIANTE
<222>	6
15 <223>	Xaa = Leu ou Ile
<220>	
<221>	VARIANTE
<222>	7
<223>	Xaa = Lys ou Val
20 <220>	
<221>	VARIANTE
<222>	10
<223>	Xaa = Lys ou Arg
<220>	
25 <221>	VARIANTE
<222>	13
<223>	Xaa = Thr ou Asn
<220>	
<221>	VARIANTE
30 <222>	16
<223>	Xaa = Glu, His, Asp, Asn, Gln ou Tyr
<400>	11

[illegible]

	<223>	Peptídeo gerado sinteticamente
	<220>	
	<221>	VARIANTE
	<222>	1
5	<223>	Xaa = Lys ou Glu
	<220>	
	<221>	VARIANTE
	<222>	2
	<223>	Xaa = Leu, Val ou Ile
10	<220>	
	<221>	VARIANTE
	<222>	4
	<223>	Xaa = Asn, Tyr ou Ser
	<220>	
15	<221>	VARIANTE
	<222>	5
	<223>	Xaa = Arg ou Trp
	<220>	
	<221>	VARIANTE
20	<222>	6
	<223>	Xaa = Phe, Ala ou Asp
	<400>	13
		Xaa Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Ser
	1	5
25	<210>	14
	<211>	7
	<212>	PRT
	<213>	Seqüência Artificial
	<220>	
30	<223>	Peptídeo gerado sinteticamente
	<220>	
	<221>	VARIANTE

	<222>	2
	<223>	Xaa = Leu, Val ou Ile
	<220>	
	<221>	VARIANTE
5	<222>	4
	<223>	Xaa = Asn, Tyr ou Ser
	<220>	
	<221>	VARIANTE
	<222>	6
10	<223>	Xaa = Phe, Ala ou Asp
	<400>	14
	Lys Xaa Ser Xaa Arg Xaa Ser	
	1	5
	<210>	15
15	<211>	7
	<212>	PRT
	<213>	Seqüência Artificial
	<220>	
	<223>	Peptídeo gerado sinteticamente
20	<220>	
	<221>	VARIANTE
	<222>	1
	<223>	Xaa = Ser ou Met
	<220>	
25	<221>	VARIANTE
	<222>	3
	<223>	Xaa = Gly, Ser ou Ala
	<220>	
	<221>	VARIANTE
30	<222>	4
	<223>	Xaa = Ser ou Thr
	<220>	

<221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = His, Glu ou Gln
 <220>
 5 <221> VARIANTE
 <222> 6
 <223> Xaa = Phe, Trp ou Leu
 <400> 15
 Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro
 10 1 5
 <210> 16
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 15 <220>
 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 3
 20 <223> Xaa = Gly, Ser ou Ala
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ser, Ile ou Thr
 25 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = His, Glu ou Gln
 <400> 16
 30 Ser Gln Xaa Xaa Xaa Phe Pro
 1 5
 <210> 17

<211> 102

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

5 <223> Peptídeo gerado sinteticamente

<400> 17

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Ser Ser

10 20 25 30

Lys Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

15 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser

85 90 95

Thr His Phe Pro Arg Thr

20 100

<210> 18

<211> 102

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

25 <220>

<223> Peptídeo gerado sinteticamente

<400> 18

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

1 5 10 15

30 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Ser Ser

20 25 30

Lys Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

	35	40	45
	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
	50	55	60
	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
5	65	70	75
	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser		80
	85	90	95
	Thr His Phe Pro Arg Thr		
	100		
10	<210>	19	
	<211>	102	
	<212>	PRT	
	<213>	Seqüência Artificial	
	<220>		
15	<223>	Peptídeo gerado sinteticamente	
	<400>	19	
	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly		
	1	5	10
	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Ser Ser		15
20	20	25	30
	Lys Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser		
	35	40	45
	Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
	50	55	60
25	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
	65	70	75
	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser		80
	85	90	95
	Thr His Phe Pro Arg Thr		
	100		
30	<210>	20	
	<211>	102	

<212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
 5 <400> 20
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Ser Ser
 20 25 30
 10 Lys Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 15 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Arg Thr
 100
 20 <210> 21
 <211> 102
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 25 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
 <400> 21
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Ser Ser
 30 20 25 30
 Lys Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 5 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Arg Thr
 100
 <210> 22
 10 <211> 102
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
 15 <400> 22
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Ser Ser
 20 20 25 30
 Lys Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 25 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Arg Thr
 100
 30 <210> 23
 <211> 102
 <212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> Peptídeo gerado sinteticamente

<400> 23

```

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

```

<210> 24

20 <211> 102

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> Peptídeo gerado sinteticamente

25 <400> 24

```

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

```

50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
 5 85 90 95
 Thr His Phe Pro Arg Thr
 100
 <210> 25
 <211> 102
 10 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
 <400> 25
 15 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Ser Ser
 20 20 25 30
 Lys Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
 20 35 40 45
 Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 25 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Arg Thr
 100
 <210> 26
 30 <211> 102
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial

<220>

<223> Peptídeo gerado sinteticamente

<400> 26

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

<210> 27

<211> 110

20 <212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> Peptídeo gerado sinteticamente

<400> 27

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

Thr Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 5 Ala Arg Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu
 100 105 110
 <210> 28
 <211> 110
 <212> PRT
 10 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
 <400> 28
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 15 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 20 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 20 Gly Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
 50 55 60
 Thr Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 25 85 90 95
 Ala Arg Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu
 100 105 110
 <210> 29
 <211> 110
 30 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>

<223> Peptídeo gerado sinteticamente

<400> 29

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

<210> 30

<211> 110

<212> PRT

20 <213> Sequência Artificial

<220>

<223> Peptídeo gerado sinteticamente

<400> 30

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

[illegible]

<400> 32

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Thr Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr

5 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ala Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

50 55 60

10 Thr Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Arg Ser Met Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu

15 100 105 110

<210> 33

<211> 110

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

20 <220>

<223> Peptídeo gerado sinteticamente

<400> 33

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

25 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

30 50 55 60

Thr Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu
100 105 110

5 <210> 34
<211> 108
<212> PRT
<213> Sequência Artificial
<220>
10 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
<400> 34

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

20 Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Met Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
65 70 75 80
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
85 90 95
Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu
25 100 105

<210> 35
<211> 110
<212> PRT
<213> Sequência Artificial
30 <220>
<223> Peptídeo gerado sinteticamente
<400> 35

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30
 5 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
 50 55 60
 Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 10 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu
 100 105 110
 15 <210> 36
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> sequência Artificial
 <220>
 20 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
 <400> 36
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
 50 55 60
 30 Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

		85		90		95										
	Ala	Lys	Asp	Val	Leu	Tyr	Tyr	Asp	Tyr	Asp	Gly	Asp	Arg	Ile	Glu	
		100		105		110										
	<210>	37														
5	<211>	110														
	<212>	PRT														
	<213>	Seqüência Artificial														
	<220>															
	<223>	Peptídeo gerado sinteticamente														
10	<400>	37														
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Gly
	1		5					10					15			
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Arg	Tyr
		20						25					30			
15	Ala	Met	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35						40					45			
	Ser	Glu	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Tyr	Pro	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Thr	Val
		50					55					60				
	Thr	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr
20	65			70					75					80		
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95		
	Ala	Arg	Val	Leu	Tyr	Tyr	Asp	Tyr	Asp	Gly	Asp	Arg	Ile	Glu		
		100						105					110			
25	<210>	38														
	<211>	110														
	<212>	PRT														
	<213>	Seqüência Artificial														
	<220>															
	<223>	Peptídeo gerado sinteticamente														
30	<400>	38														
	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Gly

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 5 35 40 45
 Gly Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
 50 55 60
 Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 10 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Thr Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu
 100 105 110
 <210> 39
 15 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
 20 <400> 39
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30
 25 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
 50 55 60
 Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 30 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr His Cys
 85 90 95

Ala Arg Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu
100 105 110

<210> 40
<211> 110
5 <212> PRT
<213> Sequência Artificial
<220>
<223> Peptídeo gerado sinteticamente
<400> 40

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

20 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu
100 105 110

<210> 41
25 <211> 110
<212> PRT
<213> Sequência Artificial
<220>
<223> Peptídeo gerado sinteticamente
30 <400> 41

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 5 Ser Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
 50 55 60
 Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 10 85 90 95
 Ala Lys Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu
 100 105 110
 <210> 42
 <211> 110
 15 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
 <400> 42
 20 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 25 35 40 45
 Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
 50 55 60
 Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 30 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu

		100		105		110
	<210>	43				
	<211>	110				
	<212>	PRT				
5	<213>	Seqüência Artificial				
	<220>					
	<223>	Peptídeo gerado sinteticamente				
	<400>	43				
	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg					
10	1		5		10	15
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr					
		20		25		30
	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val					
		35		40		45
15	Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val					
		50		55		60
	Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr					
	65		70		75	80
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys					
20		85		90		95
	Ala Arg Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu					
		100		105		110
	<210>	44				
	<211>	110				
25	<212>	PRT				
	<213>	Seqüência Artificial				
	<220>					
	<223>	Peptídeo gerado sinteticamente				
	<400>	44				
30	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg					
	1		5		10	15
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr					

	20	25	30
	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
	35	40	45
	Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val		
5	50	55	60
	Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
	65	70	75
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90	95
10	Ala Lys Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu		
	100	105	110
	<210>	45	
	<211>	110	
	<212>	PRT	
15	<213>	Sequência Artificial	
	<220>		
	<223>	Peptídeo gerado sinteticamente	
	<400>	45	
	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg		
20	1	5	10
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr		
	20	25	30
	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
	35	40	45
25	Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val		
	50	55	60
	Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
	65	70	75
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90	95
30	Ala Arg Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu		
	100	105	110

<210> 46

<211> 111

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

5 <220>

<223> Peptídeo gerado sinteticamente

<400> 46

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

10 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

15 50 55 60

Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

20 Ala Lys Asp Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu

100 105 110

<210> 47

<211> 110

<212> PRT

25 <213> Sequência Artificial

<220>

<223> Peptídeo gerado sinteticamente

<400> 47

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

30 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr

20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu
10 100 105 110

<210> 48
<211> 110
<212> PRT
<213> Sequência Artificial

15 <220>
<223> Peptídeo gerado sinteticamente
<400> 48

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

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

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

Gly Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
25 50 55 60

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

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

30 Thr Arg Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu
100 105 110

<210> 49

<211> 110
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 5 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
 <400> 49
 Glu val Gln Leu val Glu ser Gly Gly Gly Leu val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 10 20 25 30
 Ala Met Ser Trp val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr val
 35 40 45
 Ser Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr val
 50 55 60
 15 Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Gly Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu
 20 100 105 110
 <210> 50
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 25 <400> 50
 Glu val Gln Leu val Glu ser Gly Gly Gly Leu val Arg Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Phe Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30
 30 Ala Met Ser Trp val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp val
 35 40 45
 Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr val

	50		55		60
	Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr				
	65		70		75
	Leu Glu Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys				
5		85		90	95
	Ala Arg Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu Val Met				
		100		105	110
	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ala Val Ile Val Ser Ser				
		115		120	125
10	<210>	51			
	<211>	112			
	<212>	PRT			
	<213>	Mus musculus			
	<400>	51			
15	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly				
	1	5		10	15
	Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Ser Ser				
		20		25	30
	Lys Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser				
20		35		40	45
	Pro Lys Phe Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro				
		50		55	60
	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile				
	65		70		75
25	Ser Arg Val Ala Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser				
		85		90	95
	Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Thr Leu Glu Ile Lys				
		100		105	110
	<210>	52			
30	<211>	125			
	<212>	PRT			
	<213>	Homo sapiens			

<400> 52

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

5 20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

10 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Pro Met Thr Thr Val Val Lys Pro Ser Leu Ala Thr Asn

15 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 53

<211> 112

20 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

30 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Ala
						85					90					95
	Leu	Gln	Thr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
						100					105					110
5	<210>		54													
	<211>		125													
	<212>		PRT													
	<213>		Mus musculus													
	<400>		54													
10	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Arg	Pro	Gly	Gly
	1				5					10					15	
	Ser	Leu	Lys	Leu	Phe	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Arg	Tyr
					20					25					30	
	Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ser	Pro	Glu	Lys	Arg	Leu	Glu	Trp	Val
15			35					40						45		
	Ala	Glu	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Tyr	Pro	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Thr	Val
		50					55					60				
	Thr	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
	65					70					75				80	
20	Leu	Glu	Met	Ser	Ser	Leu	Lys	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys
						85					90				95	
	Ala	Arg	Val	Leu	Tyr	Tyr	Asp	Tyr	Asp	Gly	Asp	Arg	Ile	Glu	Val	Met
						100					105				110	
	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ala	Val	Ile	Val	Ser	Ser			
25			115						120					125		
	<210>		55													
	<211>		125													
	<212>		PRT													
	<213>		Homo sapiens													
30	<400>		55													
	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
	1				5					10					15	

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 5 Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 10 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Met Thr Thr Val Val Lys Pro Ser Leu Ala Thr Asn
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 15 <210> 56
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 56
 20 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Ser Ser
 20 25 30
 Lys Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 25 35 40 45
 Pro Lys Phe Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 30 Ser Arg Val Ala Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Thr Leu Glu Ile Lys

	100	105	110
<210>	57		
<211>	112		
<212>	PRT		
5 <213>	Homo sapiens		
<400>	57		
	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly		
	1 5 10 15		
	Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser		
10	20 25 30		
	Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
	35 40 45		
	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro		
	50 55 60		
15	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
	65 70 75 80		
	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala		
	85 90 95		
	Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
20	100 105 110		
<210>	58		
<211>	125		
<212>	PRT		
<213>	Homo sapiens		
25 <400>	58		
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
	1 5 10 15		
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr		
	20 25 30		
30	Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
	35 40 45		
	Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val		

	50		55		60
	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr				
	65		70		75
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
5		85		90	95
	Ala Arg Asp Pro Met Thr Thr Val Val Lys Pro Ser Leu Ala Thr Asn				
		100		105	110
	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser				
		115		120	125
10	<210>	59			
	<211>	125			
	<212>	PRT			
	<213>	Seqüência Artificial			
	<220>				
15	<223>	Peptídeo gerado sinteticamente			
	<400>	59			
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly				
	1	5		10	15
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr				
20		20		25	30
	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val				
		35		40	45
	Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val				
		50		55	60
25	Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr				
	65		70		75
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
		85		90	95
	Ala Arg Val Leu Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Asp Arg Ile Glu Val Met				
30		100		105	110
	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser				
		115		120	125

<210> 60
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 60
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 10 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 15 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 20 <210> 61
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 25 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
 <400> 61
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Ser Ser
 20 25 30
 30 Lys Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Phe Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 5 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Cys Ser Gln Ser Thr
 85 90 95
 His Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 62
 10 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 62
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 15 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 20 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 25 85 90 95
 Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 63
 <211> 112
 30 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>

<223> Peptídeo gerado sinteticamente

<400> 63

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

<210> 64

<211> 454

<212> PRT

20 <213> Sequência Artificial

<220>

<223> Peptídeo gerado sinteticamente

<400> 64

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

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

325 330 335
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 340 345 350
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 5 355 360 365
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 370 375 380
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 385 390 395 400
 10 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 405 410 415
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 420 425 430
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 15 435 440 445
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 450
 <210> 65
 <211> 98
 20 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 <220>
 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
 <400> 65
 25 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 30 35 40 45
 Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Pro Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
 50 55 60

	Thr	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr
	65					70					75					80
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90					95	
5	Ala	Arg														
	<210>		66													
	<211>		219													
	<212>		PRT													
	<213>		Seqüência Artificial													
10	<220>															
	<223>		Peptídeo gerado sinteticamente													
	<400>		66													
	Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly
	1				5				10					15		
15	Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Val	Ser	Ser
				20					25					30		
	Lys	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
			35					40					45			
	Pro	Gln	Phe	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
20		50					55					60				
	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
	65					70					75					80
	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Phe	Cys	Ser	Gln	Ser
					85					90					95	
25	Thr	His	Phe	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
					100					105				110		
	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu
				115					120					125		
	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe
30		130					135					140				
	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln
	145					150					155					160

<210> 69
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> Sequência Artificial
 5 <220>
 <223> Peptídeo gerado sinteticamente
 <400> 69
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 10 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Ser Ser
 20 25 30
 Lys Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 15 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
 85 90 95
 20 Thr His Phe Pro
 100

REIVINDICAÇÕES

1. Proteína isolada, caracterizada pelo fato de que compreende uma sequência do domínio variável da cadeia pesada e uma sequência do domínio variável da cadeia leve que podem formar um sítio de ligação de antígeno que liga ao TWEAK humano, em que a proteína tem um a ou mais das seguintes propriedades:

(a) a proteína compete com P2D10, huP2D10-1, ou huP2D10-2 para ligar ao TWEAK humano;

(b) a proteína se liga a um epítopo em um TWEAK humano que se sobrepõe ao epítopo ligado por P2D10, huP2D10-1, ou huP2D10-2;

(c) a sequência do domínio variável da cadeia pesada e/ou leve é codificada por um ácido nucleico que hibridiza sob condições altamente severas ao complemento de um ácido nucleico que codifica P2D10, huP2D10-1 ou huP2D10-2;

(d) a sequência do domínio variável da cadeia pesada e/ou leve é pelo menos 80% idêntica à sequência de aminoácido do domínio variável correspondente de P2D10, huP2D10-1, ou huP2D10-2;

(e) a sequência do domínio variável das cadeias pesada e leve é pelo menos 95% idêntica nas regiões CDR (coletivamente) às regiões CDR dos domínios variáveis da cadeia pesada e leve de P2D10, huP2D10-1, ou huP2D10-2; ou (f) pelo menos 95% idêntica nas regiões do esqueleto (coletivamente) às regiões do esqueleto dos domínios variáveis das cadeias pesada e leve de P2D10, huP2D10-1, ou huP2D10-2.

2. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a sequência do domínio variável da cadeia pesada compreende pelo menos duas das seguintes sequências dentro de uma região CDR:

GFTFSRYAMS (CDR1) (SEQ ID NO: 1),

EISSGGSYPYPDTVTG (CDR2) (SEQ ID NO: 2), e

VLYYDYDGDRIEVM DY (CDR3) (SEQ ID NO: 3).

3. Proteína de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizada pelo fato de que a sequência do domínio variável da cadeia leve compreende uma ou mais das seguintes sequências dentro de uma região CDR:

RSSQSLVSSKGNTYLH (CDR1) (SEQ ID NO: 8),
 KVSNRFS (CDR2) (SEQ ID NO: 9), e
 SQSTHFPRT (CDR3) (SEQ ID NO: 10).

4. Proteína de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo
 5 fato de que a sequência do domínio variável da cadeia pesada compreende as seguintes CDR's:

GFTFSRYAMS (CDR1) (SEQ ID NO: 1),
 EISSGGSYPYPTDTVTG (CDR2) (SEQ ID NO: 2), e
 VLYYDYDGDRIEVM DY (CDR3) (SEQ ID NO: 3);

- 10 e em que a sequência do domínio variável da cadeia leve compreende uma ou mais das seguintes sequências dentro de uma região CDR:

RSSQSLVSSKGNTYLH (CDR1) (SEQ ID NO: 8),
 KVSNRFS (CDR2) (SEQ ID NO: 9), e
 SQSTHFPRT (CDR3) (SEQ ID NO: 10).

- 15 5. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de ser uma IgG recombinante de comprimento inteiro.

6. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que compreende uma região Fc humana.

7. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo
 20 fato de que compreende uma região humana Fc com três ou menos substituições de aminoácidos.

8. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que é uma Fab ou scFv.

9. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo
 25 fato de que compreende regiões de esqueleto que são pelo menos 90% idênticas às regiões de esqueleto humanas germinativas.

10. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que as regiões de esqueleto da sequência do domínio variável da cadeia leve são pelo menos 95% idênticas, coletivamente, à sequência de
 30 uma sequência germinativa do subgrupo V κ 1.

11. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que as regiões de esqueleto da sequência do domínio variável da

cadeia pesada são pelo menos 95% idênticas, coletivamente, à sequência germinativa DP54.

12. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que as regiões de esqueleto da sequência do domínio variável da cadeia leve são pelo menos 95% idênticas, coletivamente, à sequência da sequência germinativa DPK9.

13. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que as regiões de esqueleto da sequência do domínio variável da cadeia pesada são pelo menos 95% idênticas, coletivamente, à sequência de uma sequência germinativa do subgrupo VH I.

14. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que compreende alças hipervariáveis que têm a mesma estrutura canônica que P2D10, huP2D10-1, ou huP2D10-2.

15. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a sequência do domínio variável da cadeia pesada compreende uma sequência pelo menos 95% idêntica à SEQ ID NO: 65.

16. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a sequência do domínio variável da cadeia pesada compreende a SEQ ID NO: 65.

17. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a sequência do domínio variável da cadeia leve compreende uma sequência pelo menos 95% idêntica à SEQ ID NO: 67 ou 69.

18. Proteína de acordo com a reivindicação 1 ou 15, caracterizada pelo fato de que a sequência do domínio variável da cadeia leve compreende a SEQ ID NO: 67 ou 69.

19. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a sequência do domínio variável da cadeia pesada compreende qualquer uma das SEQ ID NO: 27 a 49, ou uma sequência pelo menos 95% idêntica às mesmas.

20. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a sequência do domínio variável da cadeia leve compreende qualquer uma das SEQ ID NO: 17 a 26, ou uma sequência pelo menos 95%

idêntica às mesmas.

21. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende uma proteína, como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 20, e um veículo farmaceuticamente aceitável.

5 22. Método para produzir um anticorpo, caracterizado pelo fato de que compreende:

 fornecer uma célula hospedeira que contém sequências de ácido nucléico recombinante para expressar uma proteína que compreende uma sequência do domínio variável da cadeia pesada e uma sequência do
10 domínio variável da cadeia leve, proteína esta como definida na reivindicação 1; e

 manter a célula sob condições nas quais a proteína é expressada.

 23. Método de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo
15 fato de que compreende ainda isolar a proteína e formular a proteína com um veículo farmaceuticamente aceitável.

 24. Uso da composição farmacêutica, como definida na reivindicação 21, caracterizado pelo fato de ser para preparar um medicamento para tratar um distúrbio auto-imune.

20 25. Uso da composição farmacêutica, como definida na reivindicação 21, caracterizado pelo fato de ser para preparar um medicamento para tratar artrite reumatóide.

 26. Uso da composição farmacêutica, como definida na reivindicação 21, caracterizado pelo fato de ser para preparar um medicamento para
25 tratar esclerose múltipla.

 27. Uso da composição farmacêutica, como definida na reivindicação 21, caracterizado pelo fato de ser para preparar um medicamento para tratar acidente vascular cerebral.

 28. Uso da composição farmacêutica, como definida na reivindicação 21, caracterizado pelo fato de ser para preparar um medicamento para
30 tratar câncer.

 29. Uso de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo

fato de que o câncer é câncer pancreático.

30. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a sequência do domínio variável da cadeia pesada compreende uma sequência pelo menos 95% idêntica à SEQ ID NO: 59.

5 31. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a sequência do domínio variável da cadeia pesada compreende a SEQ ID NO: 59.

32. Proteína de acordo com a reivindicação 1 ou 30, caracterizada pelo fato de que a sequência do domínio variável da cadeia leve
10 compreende uma sequência pelo menos 95% idêntica à SEQ ID NO: 61 ou 63.

33. Proteína de acordo com a reivindicação 1 ou 30, caracterizada pelo fato de que a sequência do domínio variável da cadeia leve compreende a SEQ ID NO: 61 ou 63.

15 34. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a sequência da cadeia pesada compreende uma sequência pelo menos 95% idêntica SEQ ID NO: 64.

35. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a sequência da cadeia pesada compreende a SEQ ID NO: 64.

20 36. Proteína de acordo com a reivindicação 1 ou 34, caracterizada pelo fato de que a sequência da cadeia leve compreende uma sequência pelo menos 95% idêntica à SEQ ID NO: 66 ou 68.

37. Proteína de acordo com a reivindicação 1 ou 34, caracterizada pelo fato de que a sequência da cadeia leve compreende a SEQ ID
25 NO: 66 ou 68.

38. Proteína de acordo com a reivindicação 37, caracterizada pelo fato de que a sequência da cadeia leve compreende a SEQ ID NO: 68.

39. Proteína de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a sequência da cadeia pesada compreende a SEQ ID NO: 64
30 e a sequência da cadeia leve compreende a SEQ ID NO: 66 ou 68.

40. Proteína de acordo com a reivindicação 39, caracterizada pelo fato de que a sequência da cadeia leve compreende a SEQ ID NO: 68.

P10611414-8

RESUMO

Patente de Invenção: **"PROTEÍNA LIGANTE DE TWEAK, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO A REFERIDA PROTEÍNA, MÉTODO PARA PRODUZIR UM ANTICORPO E USO DA REFERIDA COMPOSIÇÃO".**

5

A presente invenção refere-se a anticorpos anti-TWEAK.